Generated on 2019-09-21 16:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY.

Generated on 2019-09-21 16:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

11.

Generated on 2019-09-21 16:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XIX. Band.

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde

und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg. Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter,** Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. XIX. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 26 Tafeln und 80 Abbildungen im Texte.

Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1907.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 1|3.

BOSTON MEDICAL JUN 29 1909 LIBRARY.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **J. Kürsteiner,** Assistent.

Mit 6 Figuren.

11208

Einleitung.

In Verfolgung des vorgesteckten Zieles, eine möglichst vollständige und umfassende Beschreibung der wichtigsten obligat anaëroben Mikroorganismen typischer landwirtschaftlich wichtiger Bodenarten zu liefern, haben wir uns notgedrungen mit der Verbesserung der bestehenden Isolierungs- und Züchtungsverfahren der obligat Anaëroben befassen müssen. Die Untersuchungen in dieser Richtung nahmen schließlich das Interesse derart in Anspruch, daß aus der ursprünglichen Hauptfrage eine Nebenfrage wurde.

Die Durchführung der vielen Versuche zur Erprobung der Zweckmäßigkeit und Leistungsfähigkeit unserer Untersuchungsmethoden der obligat Anaëroben ergab uns wichtige Fingerzeige zum Studium der Frage der Anaërobiose überhaupt. Dies veranlaßte meinen hochverehrten Lehrer und Chef Herrn Prof. Dr. R. Burri, mir vorzuschlagen, vorerst ganz von dem ursprünglichen Vorhaben abzustehen und das Hauptgewicht auf Untersuchungen in der eben erwähnten Richtung zu verlegen. Ich habe hierauf mit Freuden, stets die höchst wertvollen Ratschläge vonseiten des Herrn Professor Burri erfolgreich verwertend, versucht, wichtige Fragen auf dem hochinteressanten Gebiet der Anaërobiose der Lösung entgegenzuführen. Mit besonderem Interesse verfolgten wir das Problem der normalen Entwickelung obligat anaërober Mikroorganismen unter fortlaufend konstant absolut anaëroben Verhältnissen. Als Sauerstoffindikator haben wir uns bei unseren Experimenten mit bestem Erfolg der Leuchtbakterien bedient.

Die Arbeit zerfällt, wie aus dem Vorstehenden folgt, in zwei Teile: Der erste Teil umfaßt die experimentellen Beiträge zur Untersuchungstechnik der obligat Anaëroben mit einer ihnen vorgehenden historisch-kritischen Uebersicht der wichtigsten bekannten Isolierungsverfahren.

Der zweite Teil bringt eine übersichtliche Darstellung der Ansichten der verschiedenen Autoren über die Anaërobiose und daran anschließend eine experimentelle Behandlung der Grundfrage der Möglichkeit fortlaufender normaler Entwickelung bei absoluter Anaërobiose.

I. Teil: Zur Untersuchungstechnik der Anaëroben.

A. Historisch-kritische Uebersicht der gebräuchlichsten Arbeitsverfahren.

Die Züchtungsmethoden für anaërobe Mikroorganismen möchten wir mit Rücksicht auf die zur Anwendung gelangenden Hilfsmittel in folgender Weise gruppieren und besprechen:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Züchtungsmethoden bei anscheinend ungehindertem Zutritt des Sauerstoffs.
   a) Züchtung in Nährböden mit reduzierenden Substanzen,
   b) Züchtung in Nährböden mit Organstücken,
   c) Züchtung in Mischkultur mit Aëroben.
2. Züchtungsmethoden bei absichtlich bewerkstelligtem Ausschluß des Sauerstoffs.
   d) Bedeckung der niedrigen Nährbodenschicht mit Glas oder Glimmerplatten,
   e) Hohe Nährbodenschicht,
   f) Auskochen des Nährbodens,
   g) Evakuieren,
   h) Verdrängung des Sauerstoffes durch andere Gase,
   i) Absorption des Sauerstoffs,
   k) Kombinierte Verfahren.

1. Züchtungsmethoden bei anscheinend ungehindertem Zutritt des Sauerstoffs.

a) Züchtung in Nährböden mit reduzierenden Substanzen.

In dem Bestreben, anaërobe Mikroorganismen rasch und sicher zur Entwickelung zu bringen und zu isolieren, machen sich zwei Richtungen geltend. Die Vertreter der einen Richtung suchen das Ziel auf einfache Art, mit möglichster Annäherung an aërobe Kulturverfahren, zu erreichen; die Vertreter der anderen Richtung verfolgen in erster Linie das Problem der künstlichen Entfernung des Sauerstoffs aus Kulturgefäßen und Nährböden und verfallen dabei zum Teil auf unrationelle, weil komplizierte und unnötige Mittel.

Kitasato und Weyl (65) schrieben 1890 (l. c. p. 41): „Gäbe es eine Substanz, welche stärker reduzierend wirkte als der Zucker, zugleich aber das Wachstum der Anaëroben nicht beeinträchtigte, so wäre gefunden, was wir suchten: Eine Methode zur Züchtung der Anaëroben im offenen Gefäß und auf flüssigem Nährboden.“ Aus ihren diesbezüglichen Untersuchungen geht hervor, daß außer anderen organischen Stoffen besonders ameisensaures Natron und indigosulfosaures Natron, in Dosen von 0,3—0,5, resp. 0,1 Proz. dem Agar zugesetzt, so „vortreffliche Dienste beim Kultivieren von Tetanus, Rauschbrand und malignem Oedem leisten, daß sie deren Anwendung für diesen Zweck aufs wärmste empfehlen können“.

Zucker gibt schon Pasteur (104), wie aus seiner ersten Publikation über die Natur der Gärungen (1861) hervorgeht, dem Nährboden zu, wohl in der Absicht, die Entwickelung der Anaëroben zu fördern. Er sagt (l. c. p. 1261): „Dans un ballon de verre de la capacité de $^1/_4$ de litre, je place environ 100 centimètres cubes d'une eau sucrée mêlée à des matières albuminoïdes.“

Liborius (79) schreibt 1886 (l. c. p. 168): „Für alle Anaëroben erwies sich ein Zusatz von Zucker zum Nährboden (Agar, Gelatine) günstig und zwar am besten in der Menge von 2 Proz.“

Dieselbe Tatsache konstatieren später auch andere Forscher, so 1891 Babes und Puscariu (15), 1893 Novy (92), 1895 Braatz (16) und Smith (134), welcher (l. c. p. 8) schreibt: „Für die geprüften Obligatanaëroben (Rauschbrand, Tetanus) ist der Zucker absolut notwendig.“ Der fördernde Einfluß des Zuckers auf die Entwickelung der Anaëroben

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

läßt sich durch die dem Zucker zukommende Nährkraft sowohl als auch dadurch erklären, daß Zucker in alkalischer Lösung reduzierend wirkt, welcher Umstand nach Kitasato und Weyl (65) die Hauptursache des begünstigten Wachstums der Anaëroben in zuckerhaltigen Nährböden bildet.

Aehnliche Züchtungsversuche machten Beijerinck (5) mit Natriumhydrosulfit $HNaSO_3$, Trenkmann (146) mit Schwefelnatrium Na_2 S, Nakagawa (91) mit Pyrogallussäure und anderen stark reduzierenden organischen Stoffen, Rivas (120) mit Schwefelammonium in verdünnter Lösung, Hammerl (49) mit Ammoniumsulfhydrat NH_4SH, Fermi und Bassu (39) mit Kali pyrogallicum.

Letztere Autoren geben (l. c. p. 372) folgendes Resultat an: „Die mit dieser Methode erhaltene vollkommene Anaërobiose hemmt, anstatt sie zu begünstigen, die Entwickelung der echten Anaëroben.“ Wir finden dieses Resultat begreiflich. Diese genannte Wirkung beruht nämlich, wie wir, gestützt auf unsere Untersuchungen glauben behaupten zu dürfen, nicht auf der allzuweit gehenden Sauerstoffabsorption, die durch den Zusatz dieser Stoffe bedingt ist, sondern in ihrer Natur als Antiseptica, besonders bei Zusatz so großer Quantitäten, wie sie von Fermi und Bassu angegeben werden.

Wir halten den Zusatz stark reduzierender Substanzen zum Nährboden nicht nur für vollständig überflüssig, sondern in vielen Fällen für schädlich und haben bei unseren Untersuchungen von ihrer Verwendung ganz abgesehen. Dabei finden wir uns in Uebereinstimmung mit Koninski (69), der (l. c. p. 569) schreibt: „Es sind nach meinen Erfahrungen die von Kitasato und Weyl empfohlenen Zusätze von reduzierenden Mitteln gar nicht notwendig, da sie, mit wenigen Ausnahmen (Eikonogen, ameisensaures Natron), das Wachstum bloß verzögern, anstatt fördend zu wirken.“ Brenzkatechin und Pyrogallol haben nach den Untersuchungen des genannten Autors die Entwickelung überhaupt gehindert.

Hammerl (50) ist bei Anwendung seiner Absorptionsmethode nachträglich ebenfalls vom Zusatz von Ammonsulfhydrat zum Nährboden abgekommen, und Sanfelice (135) schreibt schon 1893 (l. c. p. 346): „Anfänglich fügte ich den Nährböden ameisensaures Natron hinzu, wie es Weyl und Kitasato raten, aber als ich dann sah, daß alle Anaëroben ganz gleich wie in den gewöhnlichen Nährböden ohne die genannten Zutaten wuchern, ließ ich es fort.“ Ganz richtig bemerkt er, daß es zur Kultivierung der Anaëroben, nicht so wichtig sei, den Nährböden reduzierende Substanzen zuzusetzen, als vielmehr erstere sogleich nach ihrer Herstellung anzuwenden. Frischer, tüchtig ausgekochter Nährboden ist, wie Versuche gezeigt haben, sofort nach Entnahme aus dem Dampftopf, im praktischen Sinne sauerstofffrei.

b) Züchtung in Nährböden mit Organstücken.

Vor kurzem hat Tarozzi (147) ein interessantes Verfahren zur aëroben Züchtung der Anaëroben vorgeschlagen, dem er allgemeine Verwendbarkeit zuschreibt in dem Sinne, daß es sich zur Züchtung der meisten und besonders der wichtigsten bekannten anaëroben Mikroorganismen leicht und gut eigne. Er schreibt (l. c. p. 620): „Der wesentliche Punkt der Methode besteht darin, die Mikroorganismen, von denen man eine Kultur in aërobischer Form erhalten will, in Gegenwart eines frischen und aseptisch herausgeschnittenen tierischen Gewebestückes

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich entwickeln zu lassen. Das Gewebe kann aus irgend einem der üblichen Versuchstiere (Meerschweinchen, Kaninchen, weiße Maus) entnommen werden unter der Bedingung, daß sich das Tier im Zustand vollkommener Gesundheit befindet, wenn es geopfert wird. Am besten erweisen sich die Parenchymorgane, dann die Lymphknoten und zuletzt das Muskelgewebe; ganz ungeeignet zeigt sich das Bindegewebe. Das Gewebestück muß zu einem schon vorbereiteten Nährmittel hinzugesetzt werden. Zu diesem Zwecke dient am besten unter den flüssigen Mitteln die gewöhnliche peptonisierte Bouillon, unter den festen, der in der üblichen Weise bereitete Agar."

Wrzosek (162) und Smith, Brown und Walker (133) bestätigen die Angaben Tarozzis. Ersterer findet außerdem, daß sich obligatorische Anaëroben in Bouillon sogar dann entwickelten, wenn die Bouillon nach Entfernung des Organstückes vor der Abimpfung tüchtig geschüttelt wurde, so daß die Luft in alle Bouillonschichten eindringen konnte. Nach Tarozzi (147) würde die die aërobische Entwickelung von Anaëroben begünstigende Substanz, die hiebei in Betracht kommt, von einem Bestandteil des Zellleibes der die Gewebe zusammensetzenden Zellelemente dargestellt. Dieser Bestandteil wäre leicht herausdiffundierbar und würde nach Omelianski (98) lediglich die Rolle einer stark reduzierenden Substanz spielen. Was für eine Substanz dies ist, läßt Tarozzi unerörtert. Vielleicht könnte es sich um ein reduzierendes Enzym (Reduktase) handeln.

Der Tarozzischen Methode wird man kaum allgemeine Bedeutung zuschreiben können; denn wollte man mit reduzierenden Substanzen arbeiten, so könnte dies, wie aus dem früher Erwähnten hervorgeht, auf viel einfachere Art und Weise geschehen. Zudem verfügt nicht jedes Laboratorium ohne weiteres über die zur Ausführung des Verfahrens nötigen Mittel, abgesehen davon, daß beim heutigen Stand unserer Kenntnisse über die Keimfreiheit der inneren, auch der anscheinend gesunden tierischen Organe durch die Verwendung des Gewebestückes ein unsicheres Moment in den Versuch hineingezogen wird. Aehnlich scheinen uns die Dinge zu liegen bezüglich der Methode von Hibler (51), Anaërobe unter Luftzutritt in menschlicher Hirnsubstanz (l. c. p. 603) oder nach Angabe von Tizzoni und Cattani (148), in frischem Kaninchenblut zu züchten.

c) Züchtung in Mischkultur mit Aëroben.

Pasteur (105) hat zuerst nachgewiesen, daß Anaërobe in Gegenwart von Aëroben sehr gut gedeihen. Er schreibt (l. c. p. 418): „Les plus petits des infusoires, le monas, le bacterium termo se développent dans cette eau distillée aérée et ces petits êtres lui enlèvent intégralement, avec une rapidité incroyable, jusqu'aux dernières proportions, le gaz oxygène qu'elle renferme, en le remplaçant par un volume un peu supérieur de gaz acide carbonique. Cet effet s'accomplit dans l'espace de 24 ou 36 heures au plus à la température de 25—30°. Alors seulement apparaissent les infusoires-ferments qui n'ont pas besoin de gaz oxygène pour vivre." Andernorts sagt Pasteur (106) von der Mischkultur Anaërober mit Aëroben, daß letztere ein dünnes Häutchen (une mince pellicule) an der Oberfläche, wo sie im Kontakt mit dem Sauerstoff stehen, bilden. „Cette pelicule, à laquelle s'associent d'ordinaire divers mucors et des mucédinées, empêche la dissolution du gaz oxygène dans

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

le liquide et permet par conséquent le développement des vibrions-ferments. Pour ces derniers le vase est comme fermé à l'introduction de l'air" (l. c. p. 1192). Nach Pasteur hat Roux (126) 1887 Anaërobe gezüchtet in Gegenwart von Bac. subtilis (l. c. p. 57), Penzo (114) 1891 mit Hilfe von Proteus vulgaris oder Bac. prodigiosus (l. c. p. 825). Novy (93) prüfte, ob sein neuer Oedembacillus eines Wachstums in Gegenwart von Luft in „gemischten" Kulturen fähig sei und fand besonders üppige Entwickelung des Oedembacillus in Verbindung mit Proteus vulgaris (l. c. p. 226). E. van Ermengem (28) konstatiert, daß der spezifische anaërobe Fleischgiftbacillus bei Anwesenheit einer bestimmten Tetraden bildenden Art in Zuckerbouillon bei Luftzutritt sehr gut wächst (l. c. p. 47).

Kedrowski (70) sagt im ersten Schlußsatz seiner Arbeit (l. c. p. 374): „Anaërobe Bakterien gedeihen vorzüglich unter den gewöhnlichen Bedingungen bei Zutritt von atmosphärischem Sauerstoff in gemischten Kulturen zusammen mit Aëroben." Im gleichen Sinne spricht sich Scholtz (136) aus (l. c. p. 134): „In der Regel ist das Wachstum ein sehr ergiebiges und reichlich so schnell wie in reiner Wasserstoffatmosphäre."

Ueber die praktische Verwendbarkeit dieses Verfahrens gibt Beijerinck (7) folgende Winke (l. c. p. 400): „Le moyen le plus commode d'enlever complètement l'oxygène consiste à semer en même temps une espèce aérophile qui ne vienne pas troubler le développement et l'observation de l'anaérobie. A cet effet, il faut que l'organisme aérophile satisfasse surtout aux conditions suivantes: que l'oxygène soit complètement absorbé sans que sa croissance rende le substratum trop trouble et nuise à l'observation des colonies anaérobies, ensuite que l'on puisse aisément distinguer les deux organismes en préparation microscopique et les séparer par un procédé peu compliqué." Er findet in dieser Hinsicht gewisse Hefen und von nicht sporulierenden Aëroben B. fluorescens var. non liquefaciens besonders vorteilhaft.

Aehnlich günstig erweist sich nach Koninski (69) der Micrococcus candicans. Auf demselben Prinzip des Sauerstoffverbrauchs durch einen Aëroben beruhen die Versuche von Matzuschita (86), der (l. c. p. 327) auch zu dem Schlusse kommt, daß sich die Anaëroben in Mischkulturen mit Aëroben bei Gegenwart von Sauerstoff gut entwickeln.

Zum gleichen Resultat gelangte Bienstock (12). Er schreibt (l. c. p. 851): „J'ai fait travailler mon Putrificus symbiotiquement avec un très grand nombre de bactéries aérobies." Auch v. Oettingen (103) beobachtet üppiges Wachstum in Mischkulturen von Anaëroben mit Aëroben, während Fermi und Bassu (39) konstatieren, daß die Entwickelung verschiedener Anaëroben in Korrespondenz mit einer Blastomycetenschicht sparsam oder ganz aufgehoben ist (l. c. p. 247).

Dieses vollkommen isoliert dastehende negative Resultat ist vielleicht auf die Versuchsanordnung zurückzuführen (l. c. p. 247) oder auf die schädliche Wirkung der, wenn auch geringen, von den Blastomyceten produzierten Menge Alkohol.

Jedenfalls aber ist die sparsame Entwickelung der Anaëroben in Gegenwart der Blastomycetenschicht nicht auf die, durch letztere bedingte, allzu weitgehende Sauerstoffabsorption zurückzuführen, wie Fermi und Bassu annehmen.

Uebrigens sagt Beijerinck (7) ausdrücklich (l. c. p. 400): „Si l'on

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

se propose d'étudier des anaérobies qui réclament du sucre, comme p. ex. les ferments butyriques, on emploiera de préférence, comme absorbants de l'oxygène, des Blastomycètes . . . . J'obtins de bons résultats avec la levûre rouge."

Die praktische Verwendbarkeit dieses Verfahrens der Mischkultur ist nicht so beschränkt, wie man meist annimmt. Es sei auf den zweiten Teil dieser Arbeit verwiesen, wo Näheres hierüber zu finden ist.

2. Züchtungsmethoden bei absichtlich bewerkstelligtem Ausschluß des Sauerstoffs.

d) Bedeckung der niedrigen Nährbodenschicht mit Glas- oder Glimmerplatten.

Koch (72) bedeckte die geimpfte, in Platten gegossene Nährgelatine in noch nicht ganz erstarrtem Zustande mit dünnen, sterilen Glimmerplättchen in der Absicht, den Einfluß des Sauerstoffentzuges auf die Kommabacillen festzustellen. Die Unzweckmäßigkeit dieser Methode zur Unterscheidung der Anaëroben von den Aëroben haben Liborius (79) und Braatz (16) nachgewiesen. Schill (140), Marpmann (88), Sanfelice (135), Trenkmann (146) und Streng (137) haben das Prinzip der mit Glas bedeckten Platten benutzt — erstere beiden zur Herstellung von anaëroben Rollglaskulturen, wobei zwei Reagenzgläser ineinander geschoben werden, deren größeres vorher bis zu ca. $^1/_4$ Rauminhalt mit dem geimpften Nährboden gefüllt worden ist; letztere haben das ursprüngliche Kochsche Verfahren in der Weise modifiziert, daß sie an Stelle der kleinen Glimmerplättchen sterilisierte Glasscheiben oder Uhrgläser verwenden, die die ganze Kultur luftdicht bedecken. Streng hat für diesen Zweck noch besonders modifizierte Petri-Schalen vorgeschlagen, deren Bodenschale mit einer zirkelförmigen erhabenen Leiste versehen ist (l. c. p. 600). Robin (127) gibt in neuester Zeit ein Verfahren an, wonach auf den in Petri-Schalen geimpften Agar 7 ccm Deckagar gegossen werden. Der Hauptnachteil dieser Methoden liegt — wie sofort ersichtlich ist — in der sehr unbequemen Abimpfung der Kolonieen. Aus diesem Grunde werden die Plattenverfahren kaum zu allgemeiner Verwendung kommen, zumal der Sauerstoffausschluß auf angegebene Weise doch nur sehr mangelhaft bewirkt werden kann.

e) Hohe Nährbodenschicht.

Die Einfachheit und Zweckmäßigkeit dieser Methode bedingen, daß ihr besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden sollte. Die meisten Autoren erwähnen zwar, daß das Prinzip der Kultur in hoher Schicht zum Zwecke der Anaërobenzüchtung ganz besonders günstig sei, daß aber bei der praktischen Ausführung Schwierigkeiten auftreten in Bezug auf die Untersuchung und Abimpfung einzelner Kolonieen. Das Prinzip dieser Kultur besteht darin, daß man zur Züchtung die Nährmedien in einer Menge verwendet, daß bei der durch letztere bedingten relativ großen Schichthöhe der einmal ausgetriebene Sauerstoff nur sehr langsam in die tiefer gelegenen Schichten dringt. Durch besondere Maßnahmen, wie durch Ueberschichten des Nährmediums mit einer für Sauerstoff nicht durchlässigen Substanz, kann man die luftabschließende Wirkung der hohen Schicht nach Belieben erhöhen. Es sind in dieser Hinsicht viele Vorschläge gemacht worden. Babes und Puscariu (15) be-

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

nutzen zur Isolierung der Anaëroben Dextrose-Agar in hoher Schicht, die sie mit Paraffin derart bedecken, daß zuerst der das Gläschen schließende Wattepfropf bis nahe zur Oberfläche der Nährsubstanz herabgestoßen und dann das Gläschen mit Paraffin aufgefüllt wird. Aehnlich verfuhren Park (111) und Kasparek (73) bei Züchtung des Tetanus in Bouillon. Um der Infektionsgefahr beim Nachgießen des flüssigen Paraffins vorzubeugen, verwendet letzterer einen die sterile Bouillon enthaltenden Glaskolben, in dessen Hals ein Kugelgläschen mündet, aus dem das flüssige Paraffin nach der Impfung des Nährbodens durch geeignete Neigung ohne Infektionsmöglichkeit auf die Oberfläche des Nährbodens fließen kann.

Den Paraffinverschluß halten wir für ungeeignet und in Fällen, wo es sich um möglichst vollständige Anaërobiose handelt, geradezu für schädlich, wie wir dies an anderer Stelle nachweisen werden (vergl. p. 114). Unzweckmäßig ist auch die Ueberschichtung der Kulturen mit Oel [Liborius (79) l. c. p. 122].

Empfehlenswerter ist die sogenannte Gefriermethode, wie sie von Ghon und Sachs (43) vorgeschlagen wird. Sie schreiben (l. c. p. 405): „Ihre Anwendung wird dadurch ermöglicht, daß man die flüssigen Nährböden nach der Beschickung in einem Kältegemische zum Gefrieren bringt. Die Erstarrung des verwendeten flüssigen Nährbodens erfolgt anstandslos, sei es daß man Fleischbrühe oder Peptonwasser mit und ohne Zusatz von 1—2 Proz. Zucker, Glycerin, Stärke etc. oder Milch verwendet.“ Streng (137) modifiziert diese Methode insofern, als er die Bouillon vor der Impfung gefrieren läßt. Er sagt (l. c. p. 601): „Auf diese Weise könnte der eventuell störende Einfluß, den ein Einfrieren der Bakterien vielleicht ausübt, vermieden werden.“ Auch empfiehlt er, um das Herabsinken der schützenden Agarsäule in die Bouillon zu verhindern, die Anwendung der von Rivas (120) (l. c. p. 836) vorgeschlagenen Reagenzgläser. Wir gebrauchen diese Züchtungsmethode für flüssigen Nährboden nicht, weil ein bedeutend einfacheres und praktischeres Verfahren, das später beschrieben wird, existiert (vergl. p. 23.)

Die Züchtung obligat Anaërober in festen Nährböden, z. B. in hoher Agarschicht mit Ueberschichtung mit demselben Nährboden, ist schon seit langem mit bestem Erfolg durchgeführt worden. Zuerst haben W. und R. Hesse (52) gezeigt, daß die Bacillen des malignen Oedems sehr gut wachsen, wenn infizierte Gewebsstückchen mit der Platinnadel in die Tiefe einer 1-proz. Agar- oder 5-proz. Gelatineschicht versenkt werden. Jensen und Sand (63) erprobten mit gutem Erfolg für die Kultur der Oedembacillen ein Verfahren, wonach bacillenhaltige Muskel- und Bindegewebsteile in koaguliertes Pferde- und Kälberblutserum eingebettet waren, über welchem sich eine Agarmasse von $1^1/_2$—2 Zoll Schichthöhe befand. Fast gleichzeitig, 1886, beschreibt Liborius (79) sehr eingehend seine Züchtungsmethode für Anaërobe in hoher Schicht eines festen Nährbodens. Er gießt gut ausgekochtes Nähragar in ein Reagenzglas bis zu einer Schicht von 10—20 cm Höhe, impft, verteilt das Impfmaterial mit der Oese möglichst gut im Nährboden und läßt ihn dann rasch erstarren. Um die einzelnen Kolonieen mit dem Mikroskop genauer betrachten und abimpfen zu können, empfiehlt er, den Inhalt des Röhrchens auf eine sterilisierte Glasplatte zu bringen. Dies geschieht bei Nähragar am besten durch Ausblasen mittelst eines an der Seite, bis zum Boden eingeführten, mit Wattepfropf versehenen Kapillartrichters.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Gallertkuchen wird nun mit sterilisiertem Messer in Scheiben zerlegt, und diese werden unter das Mikroskop gebracht. Nach der vorläufigen Untersuchung mit Hilfe der schwachen Vergrößerung läßt sich dann die einzelne Kolonie noch weiter isolieren und zu Präparaten und zu Ueberimpfungen verwenden, „ohne daß in einem Zimmer mit ruhiger Luft und bei steter Benutzung frisch sterilisierter Utensilien allzu häufig eine Verunreinigung der Kultur erfolgt" (l. c. p. 121). C. Fraenkel (34) und Lüderitz (80) sagen von dieser Methode, daß sie vor allen anderen einen Vorzug habe, dessen Bedeutung besonders hoch veranschlagt werden müsse. „In den Kulturen mit hohen Schichten fester Nährböden stehen die oberflächlichen Lagen unter dem Einfluß der Luft und des Sauerstoffs, und wir vermögen deshalb hier genauen Aufschluß über das Sauerstoffbedürfnis der einzelnen, zur Entwickelung kommenden Bakterien in allen Abstufungen zu erhalten. Es ist dies ein Unterscheidungsmerkmal, welches bei der Untersuchung von Aussaatmaterial, in welchem sich streng anaërobe und aërobe Keime nebeneinander vorfinden, von ganz außerordentlichem Werte ist und die Arbeit sehr erheblich erleichtert" (l. c. p. 737). Als Mängel des Verfahrens hebt C. Fraenkel hervor: Die unvollständige Beseitigung des Sauerstoffs durch das Auskochen des Nährbodens, die schwierige mikroskopische Beobachtung und endlich die Abimpfung der Kolonieen. Für letzteren Zweck schlägt er an Stelle des von Liborius empfohlenen Weges vor, das Reagenzrohr auf steriler Unterlage zu zertrümmern, den Agarkuchen mit sterilen Instrumenten vom Glase loszulösen und in eine Doppelschale zu übertragen, wo er weiter zerschnitten und verarbeitet werden kann.

Sanfelice (135) erwärmt, um den Agarcylinder herausschütten zu können, den Boden des Reagenzgläschens über einer Gasflamme. Der Agar wird dann in einer sterilen Platte mit Messern, die man nach jedem Schnitt über der Flamme sterilisiert, in parallele Scheiben geschnitten, die man dann nebeneinander legt. Auf diese Weise kann man die Kolonieen mit starker Vergrößerung unter dem Mikroskop betrachten, wie bei den gewöhnlichen Platten und mit großer Leichtigkeit isolieren.

Während Liborius, Fraenkel und Sanfelice durch Ausblasen, resp. Ausschütten die Agarschicht aus dem Reagenzglas herausbefördern, will Veillon (156) dieselbe im Glase belassen. Er fischt die Kolonieen, ohne die Agarsäule zu beschädigen, aus dem Reagenzglase heraus, indem er sich dünner sterilisierter Glaspipetten bedient. Am breiten Ende derselben wird ein Gummischlauch befestigt und jede einzelne Kolonie wird in die Pipette aspiriert.

Diese von Veillon modifizierte Liboriussche Methode wird mit geringen Modifikationen empfohlen von E. v. Hibler (51) (l. c. p. 525) und Stolz (138) (l. c. p. 103); ferner von Rist (121) (l. c. p. 292) und von Ghon und Sachs (43) (l. c. p. 407). Rodella (124) kann das Liborius-Veillonsche Verfahren, im Gegensatz zu Tissier (150), nicht zur allgemeinen Anwendung empfehlen, sondern nur für einzelne Fälle (l. c. p. 590). Wir kommen an anderer Stelle auf diese Ansicht zurück und verweisen auf die Diskussion unserer Versuchsergebnisse (vergl. p. 103).

Ein bisher unerfülltes Desiderat dieser im Prinzip ausgezeichneten Züchtungsmethode in hoher Schicht bestand, wie aus dem bisher Erwähnten hervorgeht, besonders in der leichten und sicheren Abimpfung

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Kolonieen. Es sollte ein Verfahren ausgedacht werden, welches unter Wahrung der außerordentlich einfachen Verhältnisse der Kultur in hoher Schicht jener Forderung in weitgehendem Maße Genüge leistete. Dies ist R. Burri (3) in ebenso einfacher wie praktischer Weise gelungen. Näheres im experimentellen Teil, p. 21. Die Burrische Modifikation haben Holliger (54), Ed. v. Freudenreich (32), L. Roux (126), Ankersmit (2) und Thöni (154) bei ihren Untersuchungen mit bestem Erfolg angewendet. Rodella (125) glaubt die Entfernung des Agarcylinders aus dem gewöhnlichen Reagenzglas durch Zentrifugieren und nachheriges Erwärmen des letzteren ebenso leicht bewerkstelligen zu können, wie Burri bei Verwendung des beiderseits offenen Rohres. Streng (137) empfiehlt für die hohe Schicht statt der gewöhnlichen runden, abgeplattete Reagenzgläser, die jedoch an der Mündung in einer Ausdehnung von ca. 2 cm den runden Reagenzgläsern vollkommen gleich sind. Wir halten diese Vorschläge für nicht sehr praktisch.

Der Vollständigkeit halber sind noch die heute wohl kaum mehr im Gebrauch stehenden Anaërobenzüchtungsmethoden von Esmarch (27), Roux (126) und Vignal (157) zu erwähnen.

Um die Rollkulturmethode von Esmarch (27) zur Züchtung anaërober Bakterien zu verwenden, wird ein Rollröhrchen in gewöhnlicher Weise hergestellt und dann der leere Innenraum mit möglichst abgekühltem Agar resp. Gelatine völlig ausgefüllt. Selbstverständlich kommt man mit einer gewöhnlichen Schüttelkultur im Reagenzglas zum gleichen Ziel. E. Roux (126) konstruierte besondere Pipetten, in die der Nährboden eingesogen und dann geimpft wurde. Schließlich mußte die Pipette an beiden Enden zugeschmolzen werden (l. c. p. 55). In ähnlicher Weise verfuhr Vignal (157). Statt Pipetten benutzte er 1 m lange Glasröhren, in welche die im Wasserstoffstrom geimpfte Gelatine eingesogen wurde. Die Röhre wurde dann an beiden Enden zugeschmolzen.

Dieser Züchtungsmethode in hoher fester Nährschicht schließt sich eine andere an, die die Kultur obligat Anaërober in hoher flüssiger Nährschicht bezweckt. Kitt (74) hat, wie er selbst schreibt, ganz prächtige Rauschbrandkulturen erhalten, wenn er, statt Reagenzgläser zu benützen, $^1/_2$—1 Liter Bouillon in gewöhnlichen Rollflaschen besäte und diese, bloß mit Wattepfropfen verschlossen, also aërob, in den Brütofen stellte.

Auf verhältnismäßig einfache Weise hat ferner Schmidt (139) anaërobe Bouillonkulturen erhalten, wenn er ein dickwandiges Reagenzglas von ca. 30 ccm Inhalt durch einen gut passenden, einfach durchbohrten Kautschukstopfen verschloß, in welchem ein etwa 15 cm langes, an den Enden offenes, oben nach abwärts gebogenes Glasröhrchen fest eingesetzt war. Das untere Ende dieses Glasröhrchens reicht nicht ganz bis zur unteren Fläche des Kautschukstopfens. Man füllt das sterile Reagenzglas mit der Nährflüssigkeit bis etwa 5 mm unterhalb des oberen Randes an, setzt vorsichtig den Stopfen mit dem Glasrohre auf, so daß die Luft durch letzteres entweicht und schraubt so weit fest, bis die verdrängte Flüssigkeit bis zur oberen Grenze des aufsteigenden Schenkels reicht. Nun wird das Ganze im Dampftopf nochmals sterilisiert, und wenn nachher so viel Nährflüssigkeit verschwunden ist, daß das Niveau sich nicht mehr in der Steigröhre befindet, so muß der Gummistopfen gelüftet und sterile Nährflüssigkeit nachgefüllt werden. Auch zum Zwecke der Impfung ist vorsichtiges Entfernen und Wiederaufsetzen des

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Gummistopfens erforderlich, eine Manipulation, die nicht selten eine Verunreinigung der Kultur nach sich ziehen dürfte. Farland (38) hat sich dieses Schmidtschen Verfahrens mit kleiner Abänderung bedient zur Herstellung großer Quantitäten von Tetanustoxinen. Wright (163) empfiehlt ein einfaches, aber nicht ganz einwandfreies Verfahren, welches im wesentlichen darin besteht, daß die geimpfte Nährflüssigkeit in eine Pipette eingesogen wird, die durch Einknickung des an ihrem oberen Ende befindlichen Gummischlauches verschlossen werden kann. Die Pipette steht in einem mit Nährflüssigkeit halbgefüllten Reagenzglas, welches aërob mit einem Baumwollepfropfen verschlossen ist.

Außer Bouillon wird Milch besonders empfohlen zur Anaërobenzüchtung in hoher Schicht. So schreibt Bienstock (13) (l. c. p. 402): „Ich füllte die Milch in Kolben mit langem schmalen Halse so weit ein, daß die Milchsäule im Flaschenhalse und nach 12-stündigem Stehen (auf Eis) die Rahmsäule wenigstens 10 cm hoch war, vermied bei den verschiedenen für die Sterilisation nötigen Manipulationen peinlich jede Erschütterung der Milch, kochte sie, nachdem sie die 14-tägige Kontrollprobe überstanden hatte, nochmals 1 Stunde in strömendem Dampf, um die in ihr enthaltene Luft möglichst zu vertreiben und infizierte sie dann nach Abkühlung auf ca. 30° in der Weise, daß ich ein etwa fingerkuppengroßes Stück einer alten Agarkultur, welche Putrificus-Sporen enthielt, mittels eines langen, starken Platindrahtes durch die Rahmschicht in die Milch versenkte.“

Die guten Resultate dieses Verfahrens bestätigt Rodella (124), indem er sagt, daß unter den flüssigen Medien die sterilisierte Milch die größten Vorteile biete, weshalb sie in keiner Untersuchung auf Anaëroben beiseite gelassen werden sollte. Sie ist nach Rodella nicht nur für die Isolierung des unbeweglichen Buttersäurebacillus, sondern auch für die Züchtung und Isolierung der anderen Anaërobenarten zu empfehlen (l. c. p. 592).

f) Auskochen des Nährbodens.

Dieses von Pasteur zuerst benutzte Verfahren ist das älteste und hat sich im Prinzip so gut bewährt, daß es noch heute mit größtem Vorteil angewendet wird. Allerdings benützt man für diesen Zweck kaum mehr Apparate nach Pasteurs Vorschlag (104), aber das Ziel, das man durch Auskochen des Nährbodens erstrebt, ist heute dasselbe wie damals, als er schrieb: „J'étire à la lampe le col du ballon, dont l'éxtrémité effilée ouverte est introduite sous le mercure; puis, je fais bouillir le liquide du ballon de manière à chasser totalement l'air qu'il renferme et celui que dissout le liquide“ (l. c. p. 1261).

In ähnlicher Weise wie Pasteur sind Hüfner (55), Nencki (95) und Rosenbach (128) verfahren. Der Unterschied ihrer Versuchsanordnung besteht gegenüber der Pasteurschen der Hauptsache nach darin, daß sie die Glaskolben nicht unter Quecksilber münden ließen, sondern nach genügendem Auskochen des Inhaltes, bei gleichzeitiger Luftverdünnung durch Verbindung des Kolbenhalses mit einer Luftpumpe, an geeigneter Stelle zuschmolzen.

Es würde zu weit führen, jede der genannten Methoden zu besprechen. Wir verweisen besonders auf eine neuere Zusammenstellung der Anaërobenmethoden von O. F. Hunziker (53) und auf die älteren von Hueppe (56) (l. c. p. 131) und Liborius (79). Letzterer gibt (l. c.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

p. 124) eine genaue Beschreibung seines Kochkölbchens mit „Impf- oder Infektionsfortsatz“. Zugleich macht genannter Forscher aber auf eine Reihe von Schwierigkeiten und Fehlerquellen dieses Verfahrens aufmerksam und empfiehlt es nicht zur ausgedehnten Verwendung. Eine solche dürfte auch der von Nikiforoff (97) vorgeschlagenen Kultivierungsmethode, welche der von Roux (126) beschriebenen nahesteht, kaum beschieden sein.

So vorteilhaft das Auskochen der festen und flüssigen Nährböden, resp. das Austreiben der Luft aus denselben an sich ist, so unpraktisch ist es, für diesen Zweck besondere Apparate zu konstruieren. Darauf hat Sanfelice (135) schon 1893 nachdrücklich aufmerksam gemacht. Er sah, daß z. B. 1-proz. mit Methylenblau gefärbtes Dextrose-Agar in nur 5 cm hoher Schicht im Reagenzglas nach dem Herausnehmen aus dem Dampftopfe vollständig entfärbt blieb, weil es den in sich gelösten Sauerstoff verloren hatte. Beim Stehen an der Luft färbt sich allerdings die Schicht unter dem Einflusse des zutretenden Sauerstoffes nach und nach wieder. Dabei vergehen aber einige Tage und der anaërobe Mikroorganismus hat also Zeit genug, sich am Boden des Gefäßes zu entwickeln (l. c. p. 347). In der Tat entwickeln sich die Anaëroben, wie dies ja allgemein bekannt ist, in tüchtig ausgekochter hochgeschichteter Dextrose-Gelatine oder in Agar ohne weiteres aufs beste. Viel schneller als in feste Nährböden dringt nach dem Auskochen der Sauerstoff in die flüssigen Nährböden ein. Immerhin erhält man auch bei diesen, namentlich bei Verwendung sehr hoher Schicht und reichlichen Impfmaterials, meistens gutes Wachstum. Will man sich dieses Verfahrens wegen zu großen Nährbodenverbrauches nicht bedienen, so ist die von uns mit bestem Erfolg angewendete Wrightsche Methode mit der von R. Burri eingeführten Modifikation — wie sie später beschrieben wird — anderen Vorschlägen z. B. dem von Biffi (23), oder der in letzter Zeit von Reuschel (119) vorgeschlagenen „einfachsten“ Methode der Anaërobenzüchtung in flüssigen Nährböden jedenfalls weit vorzuziehen.

g) Evakuieren der Nährböden.

Die ersten Angaben über die Zweckmäßigkeit dieses Verfahrens für die Züchtung der Anaëroben machen Pasteur, Joubert und Chamberland (109) anläßlich ihrer Untersuchungen über den Vibrion septique.

Fast ein Jahrzehnt später empfiehlt E. Roux (129) einen dem Liboriusschen „Kochkölbchen mit Infektionsfortsatz“ ähnlichen Apparat, wobei der Fortsatz mit der Luftpumpe verbunden wird, für die Züchtung im Vakuum. Ein wenig modifiziertes Gefäß verwendet er (130) später für die Kultur Anaërober auf Kartoffeln. Perdrix (115) 1891 und Grimbert (44) 1893 haben diese Kartoffelkulturröhrchen erprobt und empfohlen. Heute werden sie ihrer unpraktischen Handhabung halber wohl kaum mehr im Gebrauche sein. Ein einfacheres Verfahren als das von E. Roux (129, 130) vorgeschlagene ist dasjenige von Gruber (45), wobei die Luft aus einem an geeigneter Stelle verengten starken Reagenzglas mit 10—12 ccm Nährgelatine ausgepumpt wird. Nach dem Auskochen, Impfen und ca. $^1/_4$-stündigem Evakuieren des Nährbodens wird der Hals des Röhrchens zugeschmolzen. Gruber schreibt, das ganze Verfahren scheine umständlicher und mühsamer als es tatsächlich sei

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und es erfordere die Anlage einer Kultur bei einiger Uebung nicht mehr als 20—25 Minuten.

Abgesehen davon, daß ein solches Reagenzglas nur einmal gebraucht werden kann, ist die Gruber sche Methode viel zu zeitraubend. Diese beiden beträchtlichen Uebelstände fallen ganz weg bei dem später zu beschreibenden Wrightschen Verfahren mit der Burrischen Modifikation. Ein von Zupnik (165) empfohlenes Evakuierungsverfahren, das die Züchtung im absoluten Vakuum bezweckt und die von Chudiakow (24), Tizzoni, Cattani und Baquis (149) empfohlenen Vorrichtungen, welche mittelst einer auf eine Glasplatte gesetzten, mit Luftpumpe verbundenen Glasglocke ermöglichen, zahlreiche Kulturen gleichzeitig im Vakuum zu halten, werden kaum allgemeine Verwendung finden; ersteres wegen seiner Komplikation, letztere schon aus dem Grunde, weil wirklich gut arbeitende und dann auch entsprechend kostspielige Luftpumpen nur ausnahmsweise zur Verfügung stehen. Dasselbe gilt für den Exsikkator von Novy (94) und für den von A. Meyer (89) in neuester Zeit empfohlenen, aus Luftpumpe, Vakuumgefäß und Manometer bestehenden Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien.

h) Verdrängung des Sauerstoffes durch andere Gase.

Pasteur und seine Mitarbeiter (109) haben zuerst gezeigt, daß das Verfahren der Verdrängung des Sauerstoffes durch Kohlensäure für die anaërobe Kultur anwendbar sei. Er schreibt (l. c. p. 1039): „Le vibrion septique se développe avec facilité dans le vide parfait, avec une facilité non moins grande en présence de l'acide carbonique pur.“ Die Kohlensäure ist vielfach auch von deutschen Forschern, besonders von H. Buchner (10) (l. c. p. 411) zur Anaërobenzüchtung verwendet worden. Schon 1886 hat aber Liborius (79) (l. c. p. 126) darauf hingewiesen, daß die starke Absorption dieses Gases in Flüssigkeiten und seine Rolle als ausgesprochenes Exkret es sehr wohl verständlich machen, wenn manche Arten eine Beeinträchtigung ihrer Entwickelung durch die angehäufte Kohlensäure erfahren, und daß namentlich die Anaëroben in dieser Hinsicht empfindlich zu sein scheinen. Dies hat Kitasato (66) 1889 für den Rauschbrandbacillus bewiesen. Gleichzeitig haben Fraenkel (35) und Frankland (36) in besonderen Arbeiten die Einwirkung der Kohlensäure auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen studiert und die Unzweckmäßigkeit der Verwendung dieses Gases für Kulturen von anaëroben Mikroorganismen festgestellt.

Das Leuchtgasverfahren von Wurtz und Foureur (161) ist nach den Untersuchungen von Kladakis (68) ebenfalls ganz ungeeignet, und dasselbe dürfte, schon wegen der Giftigkeit des Gases, gelten für die von Ferran (42) empfohlene Verwendung des Acetylens bei der Kultur anaërober Bakterien. Jacobitz (62) leitet mit Benutzung der unten beschriebenen Methode von Fraenkel (34) reinen Stickstoff in Reagenzgläser. Das am häufigsten für die Zwecke der Anaërobenkultur verwendete Gas ist der Wasserstoff. Er wird von den meisten Forschern für absolut indifferent gehalten. Es sind daher auch eine große Zahl von Verfahren zur Verdrängung des Sauerstoffes durch Wasserstoff bekannt geworden. Die wichtigsten lassen sich in folgende drei Gruppen einteilen:

1) Verdrängung des Sauerstoffes durch Wasserstoff aus Reagenzgläsern.

2) Verdrängung des Sauerstoffes durch Wasserstoff aus Platten.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Verdrängung des Sauerstoffes durch Wasserstoff aus Glasglocken, Kolben und anderen Kulturgefäßen.

1. Verdrängung des Sauerstoffes durch Wasserstoff aus Reagenzgläsern.

Hauser (57), Liborius (79) und in neuerer Zeit Oprescu (101) benutzten Reagenzgläser mit seitlichen Fortsätzen, die es ermöglichten, den Wasserstoff durch das Reagenzglas resp. den Nährboden zu leiten. Die Fortsätze wie auch das obere Ende des verengten Reagenzglases wurden zugeschmolzen.

Die von Lubinski (81) angegebene Methode bedeutet eine unwesentliche Modifikation der vorigen.

Fraenkel (34) (l. c. p. 763) läßt die Gas zu- und ableitenden Röhrchen durch einen doppelt durchbohrten Gummipfropf in das Reagenzglas münden. Die Röhrchen, deren eines — das Zuleitungsröhrchen — bis auf den Boden des Reagenzglases reicht, werden abgeschmolzen, der Gummipfropf des angeblich besseren Verschlusses wegen paraffiniert und der Nährboden an den Wandungen des Reagenzglases in der von Esmarch (27) angegebenen Weise ausgebreitet. In nicht sehr praktisch modifizierter Weise wird dieses Fraenkelsche Verfahren von Petri und Maassen (112) für die anaërobe Züchtung der Bakterien in Flüssigkeiten empfohlen. Die Fraenkelsche Kulturmethode im Reagenzglas dürfte am ehesten zu empfehlen sein, insofern man überhaupt mit Wasserstoff, der nach Fraenkel durch drei Waschflaschen (Bleinitrat, Silbernitrat, Pyrogallol) geleitet werden muß, arbeiten will. Abgesehen davon, muß sie aber als ziemlich zeitraubend bezeichnet werden, indem nur 6 Kulturen in 1 Stunde angelegt werden können. Weniger zeitraubend, aber trotzdem kaum allgemein empfehlenswert, sind die Verfahren von Fuchs (41) und Blücher (20) (l. c. p. 505). Diese Autoren lassen in das mit der Oeffnung nach unten gekehrte Reagenzglas (Stich- oder Strichkultur) mittelst eines U-förmig gebogenen Zuleitungsrohres ca. 1 Minute lang Wasserstoff einströmen. Darauf wird die nach unten gehaltene Oeffnung mit einem sterilisierten Gummipfropf schnell verschlossen. Hesse (59) empfiehlt dieses Verfahren mit der Modifikation, daß der Wasserstoff unter Quecksilber eingeleitet wird, wodurch der Verschluß mit dem Gummipfropf wegfällt.

Die Kulturverfahren von E. Roux (126), Ogata (102), v. Hibler (51) (l. c. p. 527) und Heim (58), wobei der Wasserstoff durch eine bis auf den Boden des oben verengten Reagenzglases reichende Kapillare zugeleitet wird, die man nach Austreibung des Sauerstoffs entweder herausnimmt oder samt dem Reagenzglas an dessen verengter Stelle abschmilzt, dürften nur selten im Gebrauch stehen. Dasselbe wird wohl der Fall sein bezüglich der von van Senus (141) vorgeschlagenen U-Röhre. Ebensowenig Aussicht, allgemeine Verwendung zu finden, hat das von Guillemard (46) in neuester Zeit vorgeschlagene komplizierte Verfahren, nach welchem die Luft aus einer in einem Reagenzglas mit Nährlösung steckenden Pipette erst mittelst eines Wasserstoffstroms ausgetrieben und dann die Nährlösung in die Pipette eingesogen wird, die man hierauf an beiden Enden zuschmilzt.

2. Verdrängung des Sauerstoffs durch Wasserstoff aus Platten.

Die großen Vorteile des aëroben Plattenverfahrens erklären die vielen Vorschläge für Herstellung zweckmäßiger anaërober Platten. Eine an-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aërobe Platte sollte ebenso leicht und rasch herzustellen und zu handhaben sein wie eine aërobe. Vor allem muß man verlangen, daß die einzelne Platte jederzeit kontrolliert werden kann.

Ein erster Vorschlag für Herstellung anaërober Platten stammt von Kitasato (66). In ein plattes rundes Glasgefäß führt eine Zu- und eine Ableitungsröhre, die beide nach genügender Gasdurchleitung abgeschmolzen werden. Von van Senus (141) sind ähnliche Platten konstruiert und empfohlen worden. Modifikationen des von Kitasato eingeführten anaëroben Plattenverfahrens haben Roth (131), Beck (21) und Epstein (29) vorgeschlagen. Wir können dieselben jedoch teils wegen der Zerbrechlichkeit und Unhandlichkeit der Gefäße, teils wegen des komplizierten Verschlusses derselben und wegen der mangelhaften Zugänglichkeit zum Zweck der mikroskopischen Untersuchung und Abimpfung der Kolonieen nicht empfehlen.

Hauptsächlich aus dem letzteren Grunde wird auch das Plattenverfahren von Petruschky (113) mit der Fraenkelschen Gaszu- und Ableitung durch den doppelt durchbohrten Pfropf, sowie die der oben genannten ähnliche Platte von Bombicci (22) kaum allgemein zur Anwendung kommen.

Diesen, sowie auch den von Gabritschewsky (47) und Kamen (75) empfohlenen anaëroben Plattenverfahren, die auch nicht als wirklich praktisch gelten können, möchten wir eine anaërobe Platte gegenüberstellen, die den Anforderungen der Zweckmäßigkeit, Einfachheit und Billigkeit in weitgehendstem Maße entspricht (vergl. experimenteller Teil p. 29).

3. Verdrängung des Sauerstoffs durch Wasserstoff aus Glocken, Flaschen und anderen Kulturgefäßen.

Wer die Möglichkeit, eine jede Platte für sich wie beim aëroben Verfahren zu kontrollieren und zu untersuchen, als eine Hauptforderung eines zweckmäßigen anaëroben Plattenverfahrens anerkennt, wird sich mit dem Glocken- und Flaschenverfahren von vornherein nicht befreunden können.

Blücher (20) und Migula (90) haben zwar ein Plattenverfahren empfohlen, wobei in eine Glocke (Glasdose), die sich in einer Glasschale mit verdünntem Glycerin resp. flüssigem Paraffin als Abschluß befindet, nur eine Platte plaziert werden kann, die jederzeit bequem zu beobachten ist. Im Prinzip ist dieses Verfahren der Einzelkultur das einzig richtige; die Ausführung aber ist viel zu umständlich und zeitraubend, um allgemeine Verwendung zu finden. Die von Liborius (79) vorgeschlagene Glocke und deren Modifikationen nach Botkin (14), W. Hesse (52), Petri (110), Matzuschita (86), Mereschkowsky (84) mit vielen Platten bezw. Verdünnungen in demselben Raume halten wir im Prinzip für ungeeignet. Desgleichen können wir auch die von Novy (92, 94) eingeführten Flaschen und die von Lubinsky (81) empfohlenen cylindrischen Kulturgefäße nicht für wirklich praktisch gelten lassen, wenn sie auch für bestimmte Fälle, z. B. bei vergleichenden Reihenversuchen, gute Dienste leisten mögen.

Die Verfahren von Roth (131) und Petri und Maassen (112) für die anaërobe Züchtung der Bakterien in Flüssigkeiten, die sich in Glaskolben befinden, bedingen nach unserer Meinung des komplizierten Verschlusses wegen eine umständliche Handhabung. Die von E. Roux (126) und Hewlett (60) verwendeten, sehr zerbrechlichen, flaschenähnlichen

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Platten mit seitlichen Gaszu- und Ableitröhrchen wollen wir lediglich der Vollständigkeit halber erwähnen.

Die Hauptübelstände aller aufgeführten Wasserstoffverfahren sind: Kompliziertheit, zu starke Beanspruchung von Zeit, mangelhafte Zugänglichkeit der Kolonieen zwecks mikroskopischer Beobachtung und Abimpfung und endlich die nicht absolute Indifferenz des Wasserstoffs für das Wachstum gewisser Anaëroben. Dieser letzte Punkt — von prinzipieller Bedeutung — rechtfertigt die Forderung, von der Verwendung des Wasserstoffs für die Züchtung der Anaëroben überhaupt abzusehen. Wir verweisen in dieser Hinsicht auf die Arbeit von Novy (93) und deren Bestätigung durch E. v. Hibler (51) (l. c. p. 603).

i) Absorption des Sauerstoffs.

In weitaus den meisten Fällen verwendet man bei den anaëroben Züchtungsverfahren mit Hilfe sauerstoffabsorbierender Mittel alkalisches Pyrogallol. Es sind in dieser Richtung zum Teil recht praktische und von guten Erfolgen begleitete Vorschläge zur Kultur in Reagenzgläsern, Platten und Exsiccatoren bekannt gemacht worden. Fermi und Bassu (40) schreiben zwar (l. c. p. 716), daß diese Methode gar nicht zur vollständigen Beseitigung des Sauerstoffs führe. Nun ist aber die vollständige Absorption, d. h. die Bindung der letzten, vom Glase nur mittelst sehr hoher Temperatur zu entfernenden Sauerstoffmoleküle für die Zwecke der Anaërobenzüchtung durchaus unnötig.

Zum erstenmal wurde das alkalische Pyrogallol in der Bakteriologie praktisch angewendet durch H. Buchner (11). Sein einfaches Verfahren beruht darin, daß auf den Grund eines ziemlich weiten Reagenzglases 1 g trockene Pyrogallussäure und hierzu mittelst Pipette 10 ccm einer $^1/_{10}$-Kalilauge gebracht werden. In dieses Gemisch wird dann sofort auf einem kleinen Drahtgestell das vorher bereits infizierte Kulturröhrchen gestellt und das äußere, größere Reagenzglas sogleich mit einem an den Seitenwandungen etwas benetzten Kautschukpfropf luftdicht verschlossen. Buchner schreibt: „Beträgt der Luftraum der äußeren Röhre 100 ccm, die Menge der Pyrogallussäure 1 g, jene der Zehntelkalilauge 10 ccm, so ist im Brutkasten bei 37° die Sauerstoffabsorption nach 24 Stunden vollendet. Wenn Gruber (45) für seine Methode etwa 20 Minuten, Fraenkel (34) etwa 10 Minuten pro Kultur berechnet, so möchte ich für diese neue Methode, wenn alles Zugehörige zur Hand ist, höchstens die Hälfte der letzteren Dauer in Anschlag bringen.“ — Eine noch weniger zeitraubende Methode hat J. H. Wright (164) angegeben. Er setzt einen Baumwollpfropf etwas unter die Mündung des Kulturgläschens, tränkt ihn mit alkalischem Pyrogallol und verschließt dann sofort mittelst Kautschukpfropf. In ähnlicher Weise verfährt auch Hammerl (49), um das Ammonsulfhydrat vor dem oxydierenden Einfluß der Luft zu schützen, sowie zur Züchtung der Anaëroben in Bouillon. Dies ist jedenfalls das einfachste und, abgesehen von einem kleinen Mangel, auch das zweckentsprechendste Verfahren für Anaërobenzüchtung in Flüssigkeiten. Der fragliche Mangel — die drohende Verunreinigung der Kultur mit Pyrogallol — ist durch R. Burri[1]) in einfachster Weise verbessert worden (vergl. experimenteller Teil p. 23).

Das von R. Burri verbesserte Wrightsche Verfahren im Reagenzglas dürfte zweifellos als die zweckmäßigste Modifikation der Buchner-

1) Persönliche Mitteilung.

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

schen Röhre anzusehen sein. Noch einfacher ist allerdings das Verfahren von Rickards (132), wonach die Kulturgläschen ohne weiteres umgekehrt in alkalisches Pyrogallol gestellt werden. Praktisch scheint uns aber dieser Vorschlag, wie auch derjenige von Rodella (125), bei Anwendung der Buchnerschen Röhre viel mehr alkalisches Pyrogallol (bis fast zur Mündung des Kulturglases) anzuwenden, schon deswegen nicht, weil dadurch eine ganz unnötige Verteuerung der Untersuchung eintritt. Das Gleiche gilt für das von Lubinski (81) empfohlene Verfahren. Die Modifikationen der Buchnerschen Röhre von Omelianski (98), Turró (151) und Stüler (142) können, so sinnreich sie ausgedacht sind, nicht für so praktisch, einfach und zweckmäßig gelten wie das Wrightsche durch R. Burri verbesserte Verfahren.

Es ist auch versucht worden, ein allgemein anwendbares anaërobes Plattenverfahren mit Hilfe des alkalischen Pyrogallols zu gewinnen. Trambusti (152) empfiehlt, den Boden eines Kolbens, in dessen Oeffnung ein geschlossener Cylinder mit innerer, offener, also mit dem Kolben kommunizierender Röhre, eingeschliffen ist, als Platte zu benutzen. Zwischen die Wandungen des Cylinders und der inneren Röhre kommt das alkalische Pyrogallol. Der Hauptnachteil dieses Plattenverfahrens besteht — abgesehen von der Unhandlichkeit — in der schwierigen Abimpfung der Kolonieen. Diesen Fehler suchten Turró (151) und Stüler (142) durch modifizierte Petri-Schalen zu eliminieren. Von diesen Modifikationen ist namentlich die von Stüler und später von Jaqué (64) empfohlene geschickt ausgedacht. Der zentrale Teil des Bodens einer Glasdose ist erhöht und mit einem ringförmigen Randwulst umgeben, damit der im flüssigen Zustande aufgegossene Nährboden nicht überfließen kann. Der genannte Randwulst fällt zu einer geräumigen Rinne ab, welche die erhöhte Nährbodenscheibe umschließt. Sofort nach Herstellung der Kultur wird ein in die Rinne passender Glasdeckel aufgesetzt und in die Rinne alkalisches Pyrogallol gegeben und dieses mit Paraff. liq. überschichtet.

Eine ähnliche nicht so praktische Platte wie die Stülersche hat gleichzeitig Dreuw (25) empfohlen.

Was allen diesen Verfahren mangelt, ist ein einfacher, rasch auszuführender und sicher vor Sauerstoffzutritt schützender Verschluß. Ein besonderer Nachteil dieser Platten besteht auch darin, daß die in ihnen befindlichen Kulturen nicht beliebig beobachtet werden können. Wollte man z. B. eine Dreuwsche Plattenkultur zwecks Prüfung auf Anwesenheit kleinster Kolonieen gegen das Licht halten, so ließe sich eine starke Verunreinigung der Kultur durch alkalisches Pyrogallol unmöglich vermeiden. Wir möchten ein anaërobes Plattenverfahren empfehlen, dem diese und andere Fehler nicht anhaften (vergl. experimenteller Teil p. 99).

Die Exsikkatoren, Flaschen, Schalen und anderen Gefäße mit alkalischem Pyrogallol, in die viele Kulturgläser oder Platten gestellt werden können, sind nach unserer Meinung aus dem gleichen Grunde verwerflich wie die entsprechenden Wasserstoffverfahren. Die Kontrolle der einzelnen Kultur ist geradezu unmöglich. Es sei z. B. von 3 Kulturen, a, b, c, die Verdünnung a in bester Entwickelung, so kann deren mikroskopische Kontrolle selbstverständlich nur durch Oeffnung des die alkalische Pyrogallollösung enthaltenden Gefäßes geschehen. Dadurch aber ist das ziemlich teure Pyrogallol unbrauchbar geworden und es muß eventuell für die Verdünnungen b und c wieder ein neuer Exsikkator mit relativ viel Pyrogallol hergerichtet werden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Buchner (11) hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß gewöhnliche Plattenkulturen von Anaërobien möglich sind, wenn unter eine luftdicht schließende Glocke größere Mengen von alkalischer Pyrogallollösung zugleich mit den Platten eingebracht werden.

Blücher (20) und in ähnlicher Weise auch Slupski (143) haben empfohlen, pro Platte nur einen Exsikkator mit Pyrogallol anzuwenden. Das Verfahren ist prinzipiell richtig, aber unpraktisch durchgeführt.

Die übrigen Modifikationen des Buchnerschen Verfahrens beruhen darauf, daß das alkalische Pyrogallol entweder in einer Schale (Novy 94), oder in feinkörnigem Quarzsand (Arens 1), oder in einem Bierfilz (Hammerl 50) auf den Grund des Exsikkators zu liegen kommt. Die Platten werden in geeigneter Weise darüber geschichtet und der Exsikkator dann mit dem eingefetteten Deckel schnell verschlossen. Kamen (76) modifiziert den Verschluß, indem er den Deckel mittelst Spangen andrückt, und Rodella (125) glaubt, viel mehr alkalisches Pyrogallol anwenden zu müssen. Er wird dadurch genötigt, die Platten, um sie vor Verunreinigung zu schützen, in ein besonderes Glas innerhalb des Exsikkators zu legen.

Allen diesen Verfahren haften die eingangs erwähnten Mängel an. Wir benutzen sie daher bei unseren Arbeiten nicht mehr, obwohl wir z. B. mit dem modifizierten Novyschen Verfahren gute Resultate erreicht haben.

Die Vorschläge, für die anaërobe Kultur Eisenoxydul oder Chromacetat (Drossbach 26) oder Phosphor (Sellards 144) als sauerstoffabsorbierende Mittel anzuwenden, haben wir nicht geprüft, da wir besondere Vorzüge dieser Methoden nicht einsehen. Das alkalische Pyrogallol als sauerstoffabsorbierendes Mittel dürfte für die Zwecke der Anaërobenzüchtung kaum von einem anderen Mittel übertroffen werden.

Die Pyrogallolmethode in zweckmäßigster Form ist an Schnelligkeit, Einfachheit und Billigkeit nicht nur jedem anderen Verfahren ebenbürtig, sondern — ausgenommen die hohe Schichtmethode von R. Burri in vereinfachter Form — überlegen.

k) Kombinierte Verfahren.

Die Annahme, daß für die Entwickelung der obligat Anaëroben die minimalsten Spuren Sauerstoff (im praktischen Sinne) schädlich sein könnten, führte zu der Idee, zwei oder mehrere der eben erwähnten Verfahren zu kombinieren, um dadurch mit größerer Sicherheit vollständige Sauerstoffeliminierung zu erreichen. Die Unsicherheit des Verschlusses, die Ungewißheit über das erreichte Maß der Sauerstofffreiheit, hauptsächlich bei den Glocken- und Flaschenmethoden, verlangten ein Mittel, diesen Mängeln abzuhelfen. Es schien für diesen Zweck besonders das alkalische Pyrogallol geeignet, da es mit seiner sauerstoffabsorbierenden Eigenschaft diejenige eines Sauerstoffindikators vereinigt. Die „letzten Spuren" Sauerstoff sollten mit Hilfe einer gewissen Menge alkalischen Pyrogallols entfernt werden, und aus der Verfärbung desselben konnte man zugleich den mehr oder weniger weitgehenden Grad der Sauerstoffabsorption ersehen.

Kedrowski (71) und Zettnow (166) haben Apparate konstruiert, welche für Wasserstoffdurchleitung eingerichtet sind und in denen eine Petri-Schale über einem Quantum alkalischen Pyrogallols plaziert werden kann. Die Entwickelung der Anaëroben ist bequem zu beobachten; die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fertigstellung der Kultur jedoch ist besonders bei der von Zettnow empfohlenen Anordnung sehr umständlich.

Für Reagenzglaskulturen hat Votteler (158) ein kombiniertes Verfahren empfohlen, wonach die Kulturgläser umgekehrt in mit Paraffin gedecktes alkalisches Pyrogallol gestellt werden. Sodann wird mittelst U-Rohr Wasserstoff eingeleitet und die Kulturen in den Thermostaten gestellt. Einem solchen Verfahren gegenüber treten die Vorzüge der durch Einfachheit und Sauberkeit ausgezeichneten Wrightschen Methode besonders klar zu Tage. Größere Kulturgefäße (Glocken, Flaschen, Cylinder) mit Wasserstoffdurchleitung und Pyrogallolvorrat für gleichzeitige Entwickelung vieler Kulturen sind besonders von Botkin (14) und Bulloch (19) empfohlen worden. Ucke (155) hat sich des Novyschen Apparates bedient und die Mischung der Kalilauge mit dem Pyrogallol innerhalb des Apparates erst nach vollendeter Wasserstoffdurchleitung eintreten lassen.

Es ist zweifellos, daß sich die meisten Anaëroben in solchen Kulturgefäßen gut entwickeln. Doch muß auch an dieser Stelle wieder auf den großen Nachteil der verunmöglichten richtigen Kontrolle der einzelnen Kulturen aufmerksam gemacht werden. Auch ist die zuverlässige Dichtung der Gaszu- und Ableitung sowohl als auch des großen Kulturgefäßes selbst eine schwierige und nicht selten eine vergebliche Arbeit.

Alex. Klein (78) empfiehlt mit Bezugnahme auf das Verfahren von Ucke (155) statt Wasserstoffdurchleitung Evakuierung einer Glasglocke. Auf dem Boden derselben befinden sich in flacher Glasschale 2,5 g trockene Pyrogallussäure und ein sinnreich konstruierter, mit Kalilauge gefüllter Heberapparat, der in Funktion tritt, sowie der Druck bis zu dem erreichbaren Minimum gesunken ist. Die gleiche Kombination der Evakuierung des Kulturgefäßes mit nachträglich eintretender Absorption der restierenden Sauerstoffspuren durch alkalisches Pyrogallol verwenden auf geschickte Weise Omelianski (98), Harrison (61), Bordet (18), Emmerling (31) und Arthur Meyer (89).

In etwas anderer Art ist Stüler (142) vorgegangen. Er kombiniert Auskochen des Nährbodens mit Durchleitung von Wasserstoff. Für diesen Zweck empfiehlt er (l. c. p. 306) passende Gefäße für Rollröhrchen bezw. Plattenkulturen. Von Matzuschita (86) und Ewell (30) sind schon früher kombinierte Auskoch-Wasserstoffmethoden empfohlen worden.

Die Kombination: Evakuationsglocke, Wasserstoffatmosphäre und Pyrogallol ist von Kabrhel (77) vorgeschlagen und — mit einer kleinen Modifikation — besonders von Růžička (122) empfohlen worden; auch Bischoff (17) hat diese Kombination angegeben und Willimsky (159) bediente sich ihrer bei seinen Untersuchungen.

Die Verwendbarkeit dieser Anaëroben-Züchtungsverfahren ist unbestreitbar. Ebenso unbestreitbar ist aber auch ihre Umständlichkeit und unpraktische Handhabung. Die notwendigen Bedingungen für das Gelingen der Kulturverfahren sind, wie auch Kabrhel ausdrücklich hervorhebt, schwierig durchzuführen. Die Erfahrung, daß unbedeutende Umstände einen großen Einfluß auf den Verlauf der richtigen Verdrängung des Sauerstoffs ausüben können, veranlaßte Kabrhel, ein mit Methylenblau gefärbtes Indikatorröhrchen gleichzeitig mit den Kulturen in die Evakuationsglocke zu stellen. Es ist mit Hilfe dieses Indikators gezeigt worden, daß es bei augenscheinlich günstigen Dispositionen häufig doch nicht gelang, den Sauerstoff vollständig zu absorbieren. Wenn man sich

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daneben noch die Umständlichkeit der Ausführung dieser Verfahren und die Unkontrollierbarkeit der einzelnen Kultur vergegenwärtigt, so bekommt man den Eindruck, als ob man sich vom Ideal einer einfachen zweckmäßigen Anaërobenzüchtungsmethode immer weiter entferne.

Es ist nicht uninteressant, die ältesten, bald nach der Entdeckung der Anaërobiose beschriebenen kombinierten Verfahren zum Nachweis der Lebensfähigkeit der Spaltpilze bei vollständig fehlendem Sauerstoff zu vergleichen mit den in neuester Zeit empfohlenen Methoden zur Züchtung von strengen Anaëroben. Es war nach Pasteur besonders Nencki (96), der mittelst eines sinnreich kombinierten Verfahrens die Pasteursche Entdeckung bestätigte. Seine und die folgenden älteren Versuchsanordnungen finden sich außer in den Originalen in Hueppes Methoden der Bakterienforschung beschrieben.

Gegen die fast allgemein als erwiesen betrachtete Tatsache der Anaërobiose stemmte sich seinerzeit Gunning (48). Er glaubte nicht an vollständige Sauerstoffabwesenheit in Nenckis Apparat, indem er nachwies, daß in demselben weißes Ferroferrocyanür [$Fe_2(FeCy_6)$] blau wird, weshalb freier Sauerstoff vorausgesetzt werden müsse, wie winzig die Menge auch sein möge. Lachowicz und Nencki (82) sind aus dieser interessanten Kontroverse als Sieger hervorgegangen. Sie wiesen mit Hilfe eines aus drei durch eingeschmolzene Glasröhren verbundenen, im Wasserstoffstrom zuschmelzbaren Kolben bestehenden Apparates nach, daß unter den gegebenen Bedingungen (Wasserstoffdurchleitung und Auskochen der Nährflüssigkeit) nicht nur der durch die Vermischung von Ferrocyankalium mit Eisenoxydulsulfat entstehende weiße Niederschlag von Ferroferrocyanür vollständig unverändert bleibt, sondern auch, daß die Anaërobiose zweifellos ermöglicht ist.

Die Versuche, die strengst anaëroben Bakterien durch geeignete Kombination von sauerstoffverdrängenden oder -absorbierenden Mitteln in günstigen Nährböden zu züchten und zu isolieren, sind von Liborius (79) begonnen worden. Er züchtete exquisite Anaëroben unter der Glocke in Schälchen mit 1 cm hoher Nährbodenschicht in Wasserstoffatmosphäre. Zur Vervollständigung der Sauerstoffentziehung setzte er gleichzeitig Proteus-Kulturen in die Glocke. Nach Liborius sind viele zum Teil bereits erwähnte kombinierte Verfahren zur Züchtung obligat anaërober Bakterien bekannt geworden. Fermi und Bassu (39) haben verschiedene, sehr komplizierte Kombinationen empfohlen, auf die wir jedoch an dieser Stelle nicht näher eingehen. Unsere Befunde mit ihrem Ueberschichtungsverfahren, das strengste anaërobische Verhältnisse ermöglichen soll, sind im II. Teil p. 113 dargelegt.

Schattenfroh und Grassberger (145) halten das anaërobe Züchtungsverfahren mittelst Verdrängung der Luft durch ein indifferentes Gas, kombiniert mit der Absorption des Sauerstoffs durch chemisch wirksame Stoffe, für das zweckmäßigste. Sie haben das Botkinsche Verfahren (Wasserstoff + Pyrogallol) folgendermaßen modifiziert. Der aus dem Kippschen Apparat strömende Wasserstoff hat zunächst 4 Waschfläschchen, sodann mit Bimsstein gefüllte, Lösungen von salpetersaurem Blei und Silber enthaltende U-Röhren und endlich, knapp vor dem Eintritt in die Glocke, noch ebensolche Röhren mit alkalischem Pyrogallol zu passieren. So gelingt es, chemisch reinen Wasserstoff in die Kulturglocke zu bringen. Nachdem die Kulturen in der Glocke versorgt sind, wird auf den Boden der Schale, in der die Glocke steht, so viel Pyrogallollösung gegossen, daß das Niveau den Rand der Glocke um 2—3 cm

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

überragt. Unterdessen ist der Wasserstoffstrom in Gang versetzt worden. Nun wird die Pyrogallollösung außen zwischen Schale und Glocke mit flüssigem Paraffin 3—4 cm hoch überschichtet. Nach ca. einer halben Stunde läßt man eine konzentrierte Natronlauge mittelst einer Pipette durch die Paraffinschicht in die Pyrogallollösung fließen und zieht gleichzeitig die Gasleitungsschläuche aus der Glocke hervor. Schattenfroh und Grassberger schreiben (l. c. p. 61): „Wir halten die Kultur in der Botkinschen Glocke in der modifizierten Anordnung für die denkbar strengste anaërobe und haben sie überall dort angewendet, wo es uns wünschenswert schien, über die Strenge der Anaërobiose völlig sicher zu sein.“ Als einzigen Nachteil des Verfahrens erwähnen sie dessen Kostspieligkeit. Wir möchten noch den der Kompliziertheit beifügen. Ghon und Sachs (43) haben die Schattenfroh- und Grassbergersche Methode dadurch etwas vereinfacht, daß sie in Ballons käuflichen, elektrolytisch gewonnenen Wasserstoff verwenden, den sie, um ihn von den Sauerstoffspuren zu befreien, statt durch eine Reihe von Waschvorrichtungen durch eine Verbrennungsröhre mit glühender Kupferspirale leiten.

Vor kurzem hat Růžička (123) ein dem Schattenfroh-Grassbergerschen ähnliches Verfahren empfohlen, von dem er sagt: „Die in groben Zügen auffallendste Abweichung von dem Botkin-Grassberger-Schattenfrohschen Verfahren beruht darin, daß ich die Luft aus dem abgeschlossenen Raume nicht durch Wasserstoff verdränge, sondern bloß ihren Sauerstoff in seiner groben Menge mittelst eines Wasserstoffflämmchens aufzehre. Den Rest absorbiere ich bis auf letzte Spuren mittelst alkalischer Pyrogallollösung (wie beim Wiener Verfahren), so daß sich die Kulturen in einer Atmosphäre befinden, welche außer Abwesenheit von Sauerstoff mit der Luftatmosphäre fast identisch ist.“ Als Abschlußflüssigkeit verwendet er eine alkalische Traubenzuckerlösung, welche den Vorzug längerer Benutzbarkeit, Arbeits- und Kostenersparnis hat. Statt Methylenblau gebraucht Růžička Indigo als Indikator. Mit dessen Hilfe gelingt es ihm festzustellen, daß die letzten Sauerstoffspuren, wenn die Anaërobenglocke bei 37° C steht, nach 6—8 Stunden, wenn sie bei 18—20° aufbewahrt wird, jedoch erst nach 24—30 Stunden absorbiert werden. Um die Absorptionszeit um einige Stunden abzukürzen, muß man den Anaërobenraum nach dem Erlöschen der Flamme noch mit reinem Wasserstoff waschen.

Es ist kaum nötig, die Kompliziertheit und Umständlichkeit dieser Verfahren besonders hervorzuheben. Jeder, der sich mit Anaëroben beschäftigt, fühlt das Bedürfnis nach einfachen, weniger Zeit und Geld erheischenden Methoden, wenigstens insofern, als es sich lediglich um Isolierung und Weiterzüchtung anaërober Mikroorganismen handelt. Man möchte in dieser Hinsicht Sanfelice (135) vollkommen Recht geben. Er schreibt (l. c. p. 346): „Wenn man bei der Untersuchung der Anaëroben jedesmal zu so komplizierten Apparaten wie die von den verschiedenen Verfassern gebrauchten greifen müßte, würde man die Lust zum Studium derselben verlieren.“

B. Experimenteller Teil.

Fermi und Bassu (40) resumieren am Ende ihrer kritischen Uebersicht der bekannten anaërobischen Methoden (l. c. p. 718): „Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß eine gute anaërobische Kultur-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

methode äußerst kompliziert sein muß." Nach unserer Ansicht soll im Gegenteil die Kultur der Anaëroben mit möglichst wenig komplizierten Mitteln, einfach, zweckmäßig und billig durchführbar sein. Jedes bakteriologische Laboratorium, auch das mit den bescheidensten Mitteln ausgestattete, soll ohne weiteres im stande sein, das hochinteressante Gebiet der Anaërobiose nach jeder Richtung zu durchforschen.

Von den überaus zahlreichen im historischen Teil zusammengestellten Arbeitsverfahren haben wir die beiden Methoden von R. Burri (3) und J. H. Wright (164) als die weitaus praktischsten befunden, und unternehmen es nun, eine Darstellung dieser Methoden und ihrer Anwendung und Leistungsfähigkeit zu geben.

1. Die Methode von R. Burri in vereinfachter Form.

Wir haben im historischen Teil bereits auf die Zweckmäßigkeit der Methode von R. Burri, die als eine Modifikation der Liboriusschen anzusehen ist, hingewiesen. Da dieses überaus einfache Verfahren noch nicht die ihm gebührende allgemeine Beachtung gefunden zu haben scheint, so wiederholen wir hier im Einverständnis mit R. Burri (3) in Kürze die Beschreibung unter gleichzeitigem Hinweis auf die Originalmitteilung und auf das Referat in Kochs Jahresbericht (Jahrg. 13. p. 23).

Die Vorbereitung zur Ausführung des Verfahrens ist die denkbar einfachste. Es sind nötig:

a) Starke Glasröhren, von der Größe der gewöhnlichen Reagenzgläser, die an beiden Oeffnungen mit Wattepfropfen verschlossen und ca. 2 Stunden bei 160—180° C im Trockenschrank sterilisiert worden sind.

b) Eine Anzahl in einem weiten Reagenzglas unter Wasser im Autoklaven sterilisierte passende Gummistopfen.

c) Sterilisierte Petrischalen, ein Skalpell und eine Lage reines, weißes Filtrierpapier.

Die Ausführung des Verfahrens läßt sich in folgenden zehn Punkten kurz darstellen.

1) Schmelzen und Auskochen des Inhaltes von drei Gläschen mit z. B. 2-proz. Traubenzuckeragar.

2) Impfen der auf 42° abgekühlten Nährböden mit den üblichen drei Verdünnungen.

3) Ausgießen der im Wasserbad von 42° C stehenden geimpften Nährböden in je eine der drei Röhren, in denen der Wattestopfen nach erfolgtem Absengen durch einen sterilen Gummistopfen ersetzt worden ist.

4) Einstellen der so beschickten Röhren in kaltes Wasser, Erstarrenlassen des Inhaltes und dann zu 30° resp. 37° stellen. Eventuell werden nach dem Erstarren des keimhaltigen Nährbodens noch einige ccm ausgekochten und auf annähernd 42° abgekühlten, sterilen Agars obenauf gegossen und rasch erstarren gelassen.

5) Nach erfolgter Entwickelung der Kolonieen behutsames Entfernen des Gummistopfens aus der Röhre. Weglegen desselben, eventuell in desinfizierende Flüssigkeit.

6) Herausgleitenlassen des Agarcylinders auf die bereit gehaltene Lage Filtrierpapier. Trocknen desselben durch langsames Hin- und Herrollen.

7) Zerschneiden des Agarcylinders mittelst des sterilisierten Skalpells in Querschnitte von 1—2 mm Dicke und übertragen derselben direkt

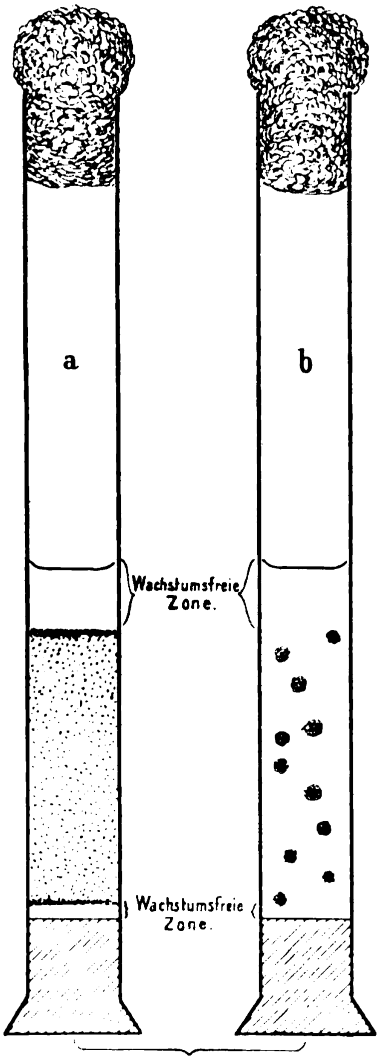
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:42 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von der Messerfläche in eine auf schwarzer Unterlage liegende sterile Petrischale.

8) Spalten des Scheibchens durch einen Schnitt in der Richtung der abzuimpfenden Kolonie, jedoch ohne die letztere mit dem Messer zu berühren, und Auseinanderrücken der Teilstücke.

9) Durch einen der Spaltungsfläche parallel geführten Schnitt von dem Scheibenstück ein die Kolonie tragendes prismatisches Stück lostrennen und so auf den Boden der Petri-Schale legen, daß die Fläche mit der Kolonie nach oben zu liegen kommt.

10) Abimpfen der Kolonie mit der Impfnadel zwecks mikroskopischer Untersuchung und Herstellung einer Zuckeragarstichkultur, die am schnellsten und einfachsten zeigt, ob ein obligat anaërober Mikroorganismus in Reinkultur vorliegt oder nicht.



Gummistopfen.
Fig. 1.

Die von R. Burri eingeführte Vereinfachung seines Verfahrens besteht nun darin, daß das Aufgießen der als steriler, abschließender Stopfen wirkenden Agarmasse auf den erstarrten keimhaltigen Nährboden unterlassen wird. Es werden dadurch Verhältnisse geschaffen, deren Vorteile übrigens schon C. Fraenkel seinerzeits am ursprünglichen Liboriusschen Verfahren hervorgehoben hat. Wir haben festgestellt, daß bei Aussaat von Bakteriengemischen die vorhandenen Aërobien den Luftabschluß ebenso gründlich besorgen wie eine Schicht von Deckagar. Nicht minder gut hat sich diese vereinfachte Methode auch bewährt bei Aussaat von Reinkulturen. Wir nennen als Beispiel den obligat anaëroben Bacillus putrificus coli Bienstock, der reinkultiviert, beispielsweise aus einem Agarstich in den üblichen drei Verdünnungen in die Burrischen Röhren geimpft, ein obligat anaërobes Wachstum zeigt, wie es typischer gar nicht gewünscht werden kann. Nebenstehende Abbildungen veranschaulichen Burrische Röhren mit Kolonieen von Putrificus coli in Reinkultur. Verdünnungen a und b. $^{2}/_{3}$ natürliche Größe.

Aehnliche typische Kulturbilder erhielten wir auch von andern obligaten Anaëroben, die wir aus Erde und anderen Substanzen isolierten und charakterisierten.

Die Mängel, die den von Liborius, Veillon u. a. vorgeschlagenen, im Prinzip ausgezeichneten Kulturverfahren in hoher Schicht anhafteten, sind durch die Modifikation von R. Burri vollständig beseitigt worden. Das Kulturglas muß nicht zertrümmert werden; das lästige Ausblasen der Agarschicht fällt weg und die Abimpfung der Kolonieen — die Hauptschwierigkeit bei den früheren Methoden — geschieht, wenn die vor-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bereitenden Maßnahmen in oben beschriebener Weise ausgeführt sind, genau wie beim gewöhnlichen aëroben Plattenverfahren. Impft man aber, wie Veillon vorgeschlagen und andere empfohlen haben, eine im Agarcylinder gelegene Kolonie mittelst dünner steriler Glaspipette ab, so muß man mit letzterer, um zu der betreffenden Kolonie zu gelangen, die ganze hohe Agarschicht passieren. Diese ist aber bei Bakteriengemischen, wenn auch makroskopisch nicht erkennbar, als sicher verunreinigt anzunehmen. Daher ist ein reines Abimpfen einer noch so schön isolierten Kolonie ganz undenkbar. Dasselbe ist natürlich auch der Fall bei den Verfahren von Liborius (79), Fraenkel (34) und Sanfelice (135). (Vergl. hist. Teil p. 7, 8.)

Anders verhält es sich aber mit der Methode von R. Burri. Das Abimpfen der Kolonieen geschieht durchaus unter Verhältnissen, wie sie bei gewöhnlichen, in Petri-Schalen hergestellten Plattenkulturen bestehen. Die auf der frischen Spaltungsfläche liegende Kolonie entspricht einer Oberflächenkolonie; die durch die Spaltungsfläche zufällig nicht getroffene, also noch von einer dünnen sterilen Nährbodenschicht überdeckte Kolonie entspricht einer Tiefenkolonie der Platte. Wir haben uns dieses Verfahrens nicht nur bei der Isolierung und Weiterzüchtung aller nicht pathogenen, sondern auch bei pathogenen Anaëroben (Tetanus u. a.) bedient. Jede Infektionsgefahr ist bei sofortiger Desinfektion des Gummistopfens, des Filtrierpapiers und der Röhre absolut ausgeschlossen.

2. Die Methode von J. H. Wright in zweckmäßigster Form.

Während wir in der Burrischen Röhre obligate Anaeroben in vollkommen geeigneter Weise in Agar, also auf festem Nährboden züchten können, steht uns in der Kulturmethode von J. H. Wright (164) ein Mittel zur Verfügung, in ebenso praktischer wie einfacher Art obligat anaërobe Bakterien in flüssigen Nährböden zu züchten. Wright (164) hat im Jahre 1901 in einer mit Abbildung versehenen Mitteilung sein Arbeitsverfahren kurz beschrieben. Er beschickt ein gewöhnliches, starkes Reagenzglas mit 8 oder 10 ccm eines bestimmten flüssigen Nährbodens, impft und schiebt nun einen sterilen Wattebausch in das Gläschen derart, daß er nicht in Berührung mit dem Nährboden kommt. Dann beträufelt er den Wattebausch mit Pyrogallussäure und Natronlauge und verschließt darauf das Reagenzglas rasch mit einem Gummistopfen.

Es ist klar, daß den vielen Vorteilen, die dieses Verfahren bietet, ein Nachteil gegenüber steht: Die Gefahr der Verunreinigung des Nährbodens durch aus dem Wattebausch herabfließendes alkalisches Pyrogallol. Diesen schwachen Punkt der Wrightschen Methode hat R. Burri sehr einfach folgendermaßen beseitigt: Der sterile, nicht entfettete, das Reagenzglas schließende Wattepfropf wird nach der Impfung des ausgekochten flüssigen Nährbodens abgeflammt, die verkohlte, aus dem Gläschen ragende Watte mittelst Schere abgeschnitten und nun der so behandelte sterile Wattepfropf mittelst Pinzette ziemlich weit ins Gläschen hineingestoßen. Auf diesen sterilen Wattepfropf stoßen wir einen entfetteten, hygroskopischen Wattebausch, der nicht unbedingt steril zu sein braucht, da der unter ihm sich befindende sterile Wattepfropf einen vollständig genügenden sterilen Abschluß bietet. In den

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hygroskopischen Wattebausch gießen wir nun aus je einem Meßcylinderchen

1 ccm 20-proz. Pyrogallussäure und
1 ccm 20-proz. Kalilauge.

Nachdem das geschehen ist, verschließen wir das Reagenzglas sofort mit einem gut passenden, vorher schnell an den Wandungen mit Wasser benetzten Kautschukpfropf. Die Benetzung bedingt zwei Vorteile: Ein leichteres Eindringen des Pfropfens und einen ausgezeichneten, vollkommen genügenden Verschluß des Reagenzglases.

Nebenstehende Abbildung zeigt ein derart verschlossenes Reagenzglas in $^2/_3$ natürlicher Größe. Wir machen darauf aufmerksam, daß bei Verwendung von Reagenzgläsern guter Qualität mit abgebogenem Rand ein Bruch des Glases beim Einschieben des Kautschukpfropfens und dadurch eventuell eine Verletzung der Hand nur höchst selten vorkommt. Um dieser Gefahr, die bei sorgfältigem Arbeiten wirklich nicht existiert, gänzlich zu begegnen, raten wir, sich bei der betr. Manipulation eines Handtuches zu bedienen.

Fig. 2.

Die Pyrogallussäure stellen wir uns her, indem wir 20 g reine feste Pyrogallussäure in 100 ccm destilliertem Wasser auflösen. Die Kalilauge erhalten wir durch Lösen von 20 g Stangen-KOH in 100 ccm destilliertem Wasser. So bekommen wir ein den Angaben von Fermi und Bassu (40) entsprechendes Gemisch von alkalischem Pyrogallol. Die Mischung geht jedoch, wie beschrieben, erst im hygroskopischen Wattebausch vor sich. Es können hierbei natürlich Meßcylinderchen oder Titrierpipetten zur Verwendung kommen. Die Sauerstoffabsorption durch alkalisches Pyrogallol ist bekanntlich sehr intensiv. Man kann durch Versuche zeigen, daß z. B. der Bacillus putrificus coli Bienstock bei 37° C in frischer, ausgekochter Dextrosebouillon bei Anwendung von 2:2 Tropfen Pyrogallussäure-Kalilauge ebenso rasch und intensiv wächst, wie bei Verwendung von $2^1/_2:2^1/_2$ ccm. Wir wählten die Mischung 1:1 ccm aus dem rein praktischen Grunde bequemer und schneller Messung, wollen aber damit keine Vorschrift aufstellen, indem, wie erwähnt, unter sonst gleichen Umständen schon Mischungen von 2:2 Tropfen an für das Wachstum des typisch obligat anaëroben Bacillus putrificus genügen. Die Annahme, das Wachstum werde ceteris paribus um so schneller und intensiver erfolgen, je mehr alkalisches Pyrogallol man zur Wirkung gelangen lasse, ist nach unseren Versuchen nicht gerechtfertigt, ebenso wenig kann aber auch die Rede sein von einer Abschwächung der Wachstumsintensität im Sinne Fermi

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Bassu (40) bei Verwendung von größeren Mengen alkalischen Pyrogallols. Beim Oeffnen eines derart modifizierten Wrightschen Kulturgläschens wird zuerst der Kautschukpfropf entfernt, dann mittelst starker Pinzette der alkalische Pyrogallolpfropf und der untere sterile Wattepfropf durch drehende Bewegung in seine ursprüngliche Lage verbracht, bezw. herausgezogen. Dabei werden allfällige, den Wänden anhaftende Mengen alkalischen Pyrogallols vollkommen entfernt. Eine derartige anaërobe Kultur ist nach Entfernung der Pfropfen ihrem Aeußern nach einer aëroben vollkommen identisch und man kann z. B. sogar Säurebestimmungen in dem betreffenden Gläschen ausführen, ohne befürchten zu müssen, ein irgendwie durch die vorherige Anwesenheit des alkalischen Pyrogallols beeinflußtes Resultat zu erhalten. Die aus dem Gläschen entfernten Kautschukpfropfen werden zweckmäßigerweise in reines Wasser geworfen, dort einige Stunden stehen gelassen, dann mit Wasser abgespült, eventuell von Zeit zu Zeit in Wasser gekocht und schließlich getrocknet. So kann man sie vor der einigermaßen zersetzenden Wirkung des alkalischen Pyrogallols schützen und jahrelang schadlos erhalten.

Es könnte dem Wrightschen Verfahren, so fehlerfrei es durch die kleine, aber sehr wichtige Burrische Modifikation geworden ist, der Vorwurf gemacht werden, der Kautschukpfropf garantiere nicht einen absolut sicheren Verschluß; es können, wenn auch nur winzige Mengen Sauerstoff immerhin zwischen Pfropf- und Glaswand durchtreten. Dem ist entgegenzuhalten, daß diese Sauerstoffmengen zweifellos sofort von dem, dem Kautschukpfropfen sehr nahe- oder anliegenden Pyrogallolpfropf absorbiert würden. Wir konnten bei Verwendung tadelloser Pfropfen und 1:1 ccm Lauge und Pyrogallol pro gewöhnliche Reagenzglaskultur niemals auch nur annähernd eine Dunkelfärbung des Pyrogallolpfropfs beobachten. Es ist bei richtiger Ausführung des Verschlusses in seiner ganzen Ausdehnung hellbraun verfärbt. Dies spricht einerseits dafür, daß kein Sauerstoff von außen eintritt und andererseits aller im Kulturglas absorbierbare Sauerstoff gebunden ist.

Oeffnen wir ein derartiges Kulturglas, so färbt sich der Pyrogallolpfropf zufolge des einströmenden Sauerstoffs natürlich sofort schwarz.

Die im praktischen Sinne absolute Sicherheit des beschriebenen Reagenzglasverschlusses gegen eindringenden Sauerstoff konnten wir noch überzeugender beweisen mit Hilfe des schärfsten aller Sauerstoffreagentien — den Leuchtbakterien. Indem wir die letzteren als feinsten Indikator benutzen, können wir zugleich den Intensitätsgrad der sauerstoffabsorbierenden Wirkung des Pyrogallolpfropfes im Reagenzglas feststellen und konstatieren, daß eine unter aëroben Verhältnissen intensiv leuchtende Kochsalzbouillonkultur von Bacterium phosphoreum (Cohn) Molisch nach Anwendung des oben beschriebenen anaëroben Verschlusses in kürzester Zeit ($^3/_4$ bis höchstens 2 Stunden) bei optimaler Temperatur (9—12° C) kein Leuchten mehr zeigt und auch beim stärksten Schütteln vollkommen dunkel bleibt. Aehnlich verhält es sich mit einer sehr intensiv leuchtenden Kochsalz-Gelatinestrichkultur. Nach 72 Stunden ist unter erwähntem anaëroben Verschluß absolut kein Leuchten mehr zu konstatieren. Diese Tatsachen entheben letzteren jedes Zweifels bezüglich Unvollkommenheit und lassen das Wright-Burrische Verfahren um so vorteilhafter erscheinen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Anwendung der Methode von J. H. Wright in zweckmäßigster Form (Wright-Burrische Methode) auf alle Kulturarten mit besonderer Berücksichtigung des Plattenverfahrens.

Die Wünschbarkeit, den eben beschriebenen ausgezeichneten Verschluß bei allen anaëroben Kulturarten anzuwenden, liegt auf der Hand. Selbstverständlich kann er an jedem geeigneten Reagenzglas mit festem Nährboden (Gelatine- oder Agarstrich) angebracht werden. Die Strichfläche wird bei Verwendung der gewöhnlichen Reagenzgläser zwar etwas kürzer, da der Verschluß die Hälfte des verfügbaren Raumes in Anspruch nimmt. Dies schadet aber der Strichkultur in keiner Weise; im ungünstigsten Falle kommt der oberste Teil des Nährbodenkeiles in direkte Berührung mit dem unteren, sterilen, keine Feuchtigkeit aufsaugenden Wattestopfen, was für die Entwickelung der Kultur bedeutungslos ist. Wir haben nach diesem Verfahren prächtige Strichkulturbilder von Putrificus und anderen obligaten Anaërobien erhalten.

Bei Stich- und Schüttelkulturen resp. Burrischen Röhren ist der modifizierte anaërobe Verschluß nach Wright überflüssig, kann aber natürlich ohne weiteres für spezielle Untersuchungen auch angewendet werden. Daß er sich ebenso leicht und zweckmäßig wie bei gewöhnlichen Reagenzgläsern bei Milch- und Kartoffelkulturgläsern anbringen läßt, ergibt sich von selbst. Es ist klar, daß vor allem der Kautschukpfropfen gut in diese umfangreicheren Gläser passen und, entsprechend der größeren zu absorbierenden Sauerstoffmenge etwas mehr alkalisches Pyrogallol zur Wirkung gelangen muß. Wir verwenden für den anaëroben Verschluß eines 25 mm Durchmesser haltenden Milchkulturglases (20 ccm sterilisierte Milch) 2 ccm 20-proz. Pyrogallussäure und 2 ccm 20-proz. Kalilauge. Dieselben Mengen dienen uns auch für den anaëroben Verschluß eines Kartoffelkulturglases.

Um die vollkommen genügende sauerstoffabsorbierende Wirkung dieses Verschlusses zu demonstrieren, impfen wir ein steriles Kartoffelstück in gewöhnlicher Weise mit Bac. mesentericus vulgatus Flügge, machen den betreffenden anaëroben Verschluß und stellen die Kultur mit einer ganz gleich geimpften, aber aërob verschlossenen, sofort zu 37° C. Nach 24 Stunden zeigt letztere, entsprechend den ausgezeichneten Lebensbedingungen des Mesentericus bei Luftzutritt, üppiges Wachstum, während in der anaërob verschlossenen Kultur makroskopisch kein Wachstum zu konstatieren ist. Später tritt eine weiße Randzone um das Impfmaterial auf, die jedoch bei mikroskopischer Untersuchung keine vegetativen Bakterienformen erkennen läßt. Nach 4 Wochen ist keine Aenderung eingetreten. Die Randzone ist nur noch undeutlich zu sehen und absolut kein Wachstum zu bemerken. Das Kartoffelstück unter aërobem Verschluß ist nach 4 Wochen natürlich fast vollständig verbraucht, während dasjenige unter anaërobem Verschluß noch vollständig frisch erhalten ist. Oeffnet man nun das Kulturglas, setzt man also das 4 Wochen unter anaërobem Verschluß gestandene, geimpfte Kartoffelstück in aërobe Bedingungen, so tritt nach wenigen Stunden wieder das typische Mesentericus-Kulturbild auf.

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Schleimbildung in Milch.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle a. S. (Dir.: Geh. Med.-Rat. Prof. Dr. C. Fraenkel).]

Von Dr. **Y. Sato,**

Prof. an der Kaiserl. Japanischen Hochschule für Landwirtschaft und Forstwirtschaft Morioka (Japan).

I. Eigenschaften des Erregers.

Bei meinen Arbeiten im Hygienischen Institut der Königl. Universität zu Halle a. S. habe ich mich besonders mit Untersuchungen über die Schleimbildung in der Milch beschäftigt.

Ich fand als die Ursache einer schleimigen Milch Diplokokken. Diese Kokken gedeihen nicht nur in Milch, Milchpeptongelatine oder anderen Molkenflüssigkeiten, sondern auch in Bouillon, Bierwürze etc. Sie wachsen nur auf neutralen oder schwach alkalischen Nährböden; selbst ganz schwache Säure verhindert ihre Entwickelung.

1) Mikroskopisches Aussehen. Die Größe der Kokken differiert mehr oder weniger auf den verschiedenen Nährböden; z. B. die Kokken aus Bouillon, in der sich schon nach 1 Tage Schleim bildet, sind groß, während diejenigen aus Barsiekow-Lösung, in welcher sich kein Schleim bildet, klein sind. In Bouillon sieht man oftmals zwei oder drei Paare kettenförmig aneinandergereiht liegen, was in Barsiekows Nährboden niemals gefunden wird.

Der Durchmesser der Kokken beträgt in dem mit Methylenblau gefärbten Präparat aus Bouillon im Mittel (Einzelcoccus) 0,7 μ, die kleinsten Kokken messen 0,5 μ, die größten 1,0 μ.

Beweglichkeit: Die Kokken haben keine Eigenbewegung.

Sporen und Kapseln: Die Kokken enthalten in sich keine Sporen. Kapseln konnten mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden.

Färbung: Die Kokken lassen sich mit Methylenblau oder Karbolfuchsin sehr gut färben. Gramscher Färbung gegenüber verhalten sie sich negativ.

2) Wachstum auf verschiedenen Nährböden. Gelatineplatten: Nach 1 Tage kann man eben sehr kleine Kolonieen erkennen. Nach 2 Tagen zeigen sich diejenigen, die auf der Oberfläche liegen, als weißgelbe stecknadelkopfgroße Kügelchen.

Gelatinestich: Da die Kokken aërob sind, wachsen sie entlang dem Gelatinestichkanal nur wenig, verbreiten sich aber nach einigen Tagen über die ganze Oberfläche, ohne die Gelatine zu verflüssigen.

Agarplatten: Nach 1 Tage erscheinen graugelbe kleine Kolonieen, die oberflächlichen sind viel größer als die in der Tiefe liegenden. Die Kolonieen sind so klebrig, daß man sie mit der Platindrahtspitze leicht abnehmen kann.

Agarstich: Nach 1 Tage ist die ganze Oberfläche mit einem weißgrauen Ueberzug bedeckt, während man am Stichkanal die Stichspur kaum erkennen kann.

Agarstrich: Nach 1 Tage schon erscheint ein sehr üppiger, weißgelber, klebriger Belag.

Kartoffel: Auf Kartoffeln bilden die Kokken bei sehr üppigem

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

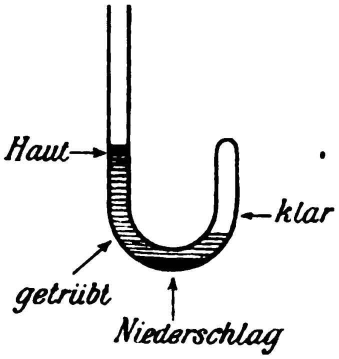
Wachstum schon nach 2 Tagen eine hellgraue, syrupähnliche Schicht, die die ganze Oberfläche des Nährbodens bedeckt.

Lackmusmolke: Nach 2 Tagen wird die Flüssigkeit trübe und etwas fadenziehend, ohne Veränderung der eigenen Farbe. Nach 3 Tagen hat sich am Rande des Röhrchens eine weiße Haut gebildet, die durch Schütteln sich über die ganze Flüssigkeit verteilt und sie schleimig macht.

Milchgelatine: Nach 20 Stunden haben sich weiße, gallertige Kolonieen auf der Oberfläche der schrägen Fläche angesiedelt, die man mit der Platinöse nicht leicht abnehmen kann.

Bierwürze: Wenn die Bierwürze neutral oder schwach alkalisch ist, wachsen die Kokken sehr gut. Nach 2 Tagen ist die Oberfläche mit einer weißen dünnen Haut bedeckt, ohne daß die Flüssigkeit noch getrübt erscheint. Die Haut wird nach einigen Tagen allmählich dicker und macht beim Schütteln die ganze Flüssigkeit trübe und schleimig.

Milch: Sterilisierte Milch eignet sich als Nährboden sehr gut; bei Zimmertemperatur ist sie nach 20 Stunden mit einer schleimigen Haut bedeckt, während der untere Teil der Milch noch nicht schleimig ist. Wenn man aber die Milch schüttelt und einige Tage stehen läßt, so ist sie dann mit einer dicken Haut bedeckt, die beim Schütteln die ganze Flüssigkeit sehr schleimig macht. Das Schleimigwerden bleibt dauernd bestehen, ohne Säurebildung oder Gerinnung des Kaseins.



Bouillon: In Gärungsröhrchen mit Bouillon und verschiedenen Zuckersorten findet man keine Gasbildung. Nach 1 Tage sieht man jedoch eine weiße Haut auf der Oberfläche dieser Nährlösungen; nach 2 Tagen wird die Flüssigkeit unter dieser Haut etwas trübe und nach 3 Tagen ist die ganze offene Hälfte des Röhrchens stark getrübt, wobei sich etwas Niederschlag auf dem Boden desselben bildet, während der andere geschlossene Teil des Röhrchens immer ganz klar bleibt.

3) Reaktionen der schleimig gewordenen Nährlösungen. Indol: Wenn man zur schleimig gewordenen Nährlösung Indolindikator (Natrium- Nitrit und Schwefelsäure) zusetzt, zeigt sich keine Spur von Indol.

Sulfid: Bei Zusetzung von Bleiacetat sieht man keine Bildung von Schwefelblei.

Ammoniak: Bei Zusatz von Nesslers Reagens zeigt sich auch keine Reaktion.

4) Sauerstoffbedürfnis. In einem luftdicht abgeschlossenen Glasgefäße, in dem der Sauerstoff durch Pyrogallussäure und Kalilauge entfernt ist, fand kein Wachstum der Kokken statt. Wenn man einen Teil der Oberfläche von Agarplatten mit Glimmerschiefer fest bedeckt, kann man schon nach 1 Tage sehr deutlich wahrnehmen, daß der unbedeckte Teil mit einem Belage von Kokken versehen ist, während auf dem bedeckten Teil davon nichts wahrgenommen werden kann.

II. Einfluß der Temperatur auf die Schleimbildung.

Die Temperatur hat bedeutenden Einfluß auf die Entwickelung der Kokken. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 20° und 25° C, das Temperaturminimum bei 6° C. Bei 37° C kann man die fadenziehende

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Substanz nicht mehr erzeugen, aber der Coccus bleibt in dieser Temperatur lange lebend, wie folgendes Experiment zeigt: 5 Röhrchen mit sterilisierter Milch (a) und 5 Röhrchen mit Bierwürze (b) wurden mit den Kokken geimpft und in den Brutschrank (37° C) gestellt, in welchem kein Wachstum der Kokken statthatte. Wurden die Röhrchen nach 1, 2, 3, 7 und 12 Tagen wieder in die Zimmertemperatur (20° C) zurückgebracht, so entwickelten sich bereits nach 24 Stunden die Kokken in der Milch wieder sehr gut, und das Fadenziehen zeigte sich in den Flüssigkeiten. Nach einer 7-tägigen Aufbewahrung der Röhrchen mit Bierwürze im Brutschrank trat aber keine Entwickelung der Kokken mehr ein, weil dieselben inzwischen eingegangen waren.

Daraus ist zu erkennen, daß der Coccus, obgleich er bei 37° nicht zu wachsen vermag, doch bei dieser Temperatur seine Lebensfähigkeit mehrere Tage bewahrt.

Nachstehend eine Tabelle für die oben beschriebenen Versuche:

Nachdem sie im Brutschrank 37° C waren	1 Tag	2 Tage	3 Tage	7 Tage	12 Tage
1) a. Milch	fadenziehend				
b. Bierwürze	fadenziehend				
2) a. Milch		fadenziehend			
b. Bierwürze		fadenziehend			
3) a. Milch			fadenziehend		
b. Bierwürze			fadenziehend		
4) a. Milch				fadenziehend	
b. Bierwürze				nicht fadenz.	
5) a. Milch					fadenziehend
b. Bierwürze					nicht fadenz.

Bei höherer Temperatur dagegen kann der Coccus nicht lange leben. Sterilisierte Milch (a) und Bierwürze (b) wurden einer Temperatur von 50° C ausgesetzt, nach den unten angegebenen Zeiträumen wieder herausgenommen und 24 Stunden bei Zimmertemperatur (20° C) gehalten. Dann ergab sich folgendes Resultat:

50° C	1/2 Stunde	1 Stunde	1 1/2 Stunde	2 Stunden
1) a. Milch	Fadenziehen			
b. Bierwürze	Fadenziehen			
2) a. Milch		Fadenziehen		
b. Bierwürze		Fadenziehen		
3) a. Milch			kein Fadenziehen	
b. Bierwürze			kein Fadenziehen	
4) a. Milch				kein Fadenziehen
b. Bierwürze				kein Fadenziehen

Auch bei niedriger Temperatur kann der Coccus nicht wachsen; bei 6° C ist die Entwickelung schon unmöglich; aber selbst bei 0° C kann der Coccus noch viele Tage lebensfähig bleiben, wie folgendes Experiment zeigt:

Agar und Gelatine einerseits und sterilisierte Milch und Bierwürze andererseits wurden mit Kokken geimpft und in schmelzendes Eis gestellt, das immer 0° C zeigte. Jeden Tag wurde nachgesehen, ob ein Wachstum zu bemerken war oder nicht! Keine Prüfung ergab Wachstum oder Fadenziehen. Nach 10 Tagen wurden alle Objekte herausgenommen und in Zimmertemperatur gebracht. Das Resultat war folgendes:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

		nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 3 Wochen
Agar schräg	a.	schöne Kolonieen	schöne Kolonieen	schöne Kolonieen	schöne Kolonieen
	b.	" "	" "	" "	" "
Gelatine schräg	a.	" "	" "	" "	" "
	b.	" "	" "	" "	" "
Milch	a	kein Fadenzieh.	kein Fadenzieh.	kein Fadenzieh.	kein Fadenzieh.
	b.	" "	" "	Fadenziehen	Fadenziehen
Bierwürze	a.	" "	" "	kein Fadenzieh.	kein Fadenzieh.
	b.	" "	" "	" "	" "

III. Die Zusammensetzung des Nährbodens in ihrem Einfluß auf die Schleimbildung.

Da die Kokken in Milch sehr gut wachsen und die Milch schnell schleimig wird, sah ich mich veranlaßt, die folgenden Versuche anzustellen, um zu bestimmen, welche Bestandteile der Milch zum Schleimigwerden notwendig sind. Ich bediente mich folgender Nährlösungen:

1) Milchzucker 5 Proz + Minerallösung
2) Kasein 3 " + "
3) reines Fett 30 " + "
Butter 30 " + "
4) Albumin 3 " + "

(Die Minerallösung war nach Fischer hergestellt: 0,1 Proz. K_2HPO_4, 0,02 Proz. $MgSO_4$, 0,01 Proz. $CaCl_2$; (2) und (4) wurden außerdem mit Kalilauge schwach alkalisiert.)

Jede Nährlösung wurde dann mit Kokken geimpft und in Zimmertemperatur (20° C) gestellt. Ich fand bei:

	Fadenziehend (+) oder nicht (—)	Bemerkungen
1) Milchzucker	—	die Lösung blieb immer klar
2) Kasein	+	nach 2 Tagen trüb, nach 8 Tagen stark fadenziehend
3) Reines Fett	—	blieb immer klar
Butter	—	blieb immer klar
4) Albumin	+	nach 4 Tagen trüb, nach 12 Tagen fadenziehend

Obwohl das Fadenziehen in Kasein- und Albuminlösungen viel später eintrat als bei gewöhnlicher Milch, konnte ich bei beiden bedeutende Schleimbildung wahrnehmen, während in den anderen Nährlösungen auch nach 2 Wochen kein Schleimigwerden stattfand.

Dieses Ergebnis lehrt anscheinend, daß besonders die Stickstoffverbindungen zum Schleimigwerden beitragen. Um dies aber noch sicherer nachzuweisen, machte ich noch folgendes Experiment:

1) Zuckerlose Milch. [Die Milch wurde mehrere Male mit destilliertem Wasser dialysiert, und dadurch ganz von dem Milchzucker befreit. Die so vorbereitete Milch gab keine Reaktion mit der Fehlingschen Lösung.]

2) Fettlose Milch. [Die Milch wurde mit Aether (a) und Chloroform (b) geschüttelt und zentrifugiert. Das abgeschiedene Fett wurde sodann entfernt. Nachdem diese Behandlung der Milch noch 2mal wiederholt worden war, konnte keine Spur von Fett mehr gefunden werden.

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Beide Lösungen wurden dann erwärmt, um den Aether, bezw. das Chloroform auszutreiben.]

3) Kasein- und albuminlose Milch. [(a) Die Milch wurde zuerst gekocht, dann Essigsäure zugesetzt und weiter gekocht, um die beiden Stickstoffverbindungen gerinnen zu lassen, darauf zentrifugiert, um das Kasein und Albumin von dem flüssigen Teil der Milch zu trennen. Die zugesetzte Essigsäure wurde mit Kalilauge neutralisiert. (b) Der gewonnene Niederschlag (nämlich Kasein und Albumin) wurde dann noch mit der dreifachen Menge Kochsalzlösung (0,85-proz.) geschüttelt.]

Jede dieser Nährlösungen wurde mit den Kokken geimpft und bei 20° C gestellt. Dann ergab sich:

Nährböden	Fadenziehend (+) oder nicht (—)	Bemerkungen
1) Zuckerlose Milch	+	nach 1 Tage schon stark fadenziehend
2) a. Fettlose Milch	+	nach 2 Tagen fadenziehend
2) b. Fettlose Milch	+	nach 4 Tagen fadenziehend
3) a. Kasein und albuminlose Milch	—	
3) b. Niederschlag von Kasein und Albumin	+	nach 1 Tage stark fadenziehend

Dieses Resultat bestätigt die Meinung, daß die Stickstoffverbindungen zu der Schleimbildung notwendig sind, während die Entfernung von Milchzucker und Fett die Bildung von Schleim nicht verhindert.

IV. Welche Arten der Stickstoffverbindungen passen als Nährböden?

Da die Diplokokken sich nicht nur auf tierischen Materialien, sondern auch auf pflanzlichen Stoffen, wie Bierwürze oder Kartoffel, entwickeln, war es mir weiterhin wichtig, die zu ihrer Entwickelung geeignetsten Stickstoffverbindungen zu bestimmen. Ich bereitete mir folgende Nährlösungen:

1) Albumin	3	Proz.	+	Milchzucker	5 Proz.	in	Fischers	Minerallösung
2) Kasein	3	„	+	„		„	„	„
3) Pepton	3	„	+	„		„	„	„
4) Asparagin	3	„	+	„		„	„	„
5) Natron nitricum	3		+	„		„	„	„
6) Ammoniumsulfat	3	„	+	„		„	„	„
7) Hühnereiweiß (10 Proz. in 0,85-proz. Kochsalzlösung)								
8) Hühnereigelb (10 „ „ 0,85 „ „)								

Jede Nährlösung wurde mit den Kokken geimpft und bei 20° C aufgestellt. Die Resultate waren folgende:

(Siehe Tabelle p. 32.)

Obwohl die mineralischen Stickstoffverbindungen, salpetersaures Natron und schwefelsaures Ammoniak zu Nährböden nicht gut passen, da sich kein Schleimigwerden bei ihnen zeigt, so kann man doch eine Vermehrung der Diplokokken in ihnen unter dem Mikroskop erkennen; und wenn man von den 5 Tage alten Kulturen (von Natriumnitrat und Ammoniumsulfat) Milch impft, kann man schon nach 20 Stunden sehr bedeutendes Fadenziehen der Milch wahrnehmen.

An diesem Befunde änderte ein größerer oder geringerer prozentualer Gehalt der beiden Stickstoffverbindungen in den Nährlösungen nichts, wie folgendes Experiment bewies: Die beiden Arten von Stick-

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nährlösuugen	Schleimigwerden (+) oder nicht (—)	Bemerkungen
1) Albumin	+	nach 1 Tage etwas trüb nach 7 Tagen fadenziehend
2) Kasein	+	nach 1 Tage trüb nach 5 Tagen stark fadenziehend
3) Pepton	+	nach 1 Tage etwas trüb nach 9 Tagen fadenziehend
4) Asparagin	+	nach 4 Tagen etwas trüb nach 13 Tagen fadenziehend
5) Natron nitricum	—	blieb immer klar
6) Ammoniumsulfat	—	blieb immer klar
7) Eiweiß	+	nach 5 Tagen fadenziehend
8) Eigelb	+	nach einem Tage stark fadenziehend auf der Oberfläche mit weißer Haut

stoffverbindungen wurden in Mengen von 0,5 Proz., 1 Proz., 2 Proz., 3 Proz. und 5 Proz. der Nährlösung zugefügt. Alle wurden dann mit den Kokken geimpft und bei 20° C gestellt. Die Kulturen bleiben aber — während 3 Wochen — immer klar, ohne jedes Schleimigwerden.

V. Bedeutung der Mineralstoffe.

Die Kokken wachsen in Peptonwasser (1 Proz. Pepton in 0,5-proz. Kochsalzlösung), aber ohne Fadenziehen; man kann daher sagen, daß die gebräuchlichen Mineralstoffe zur Entwickelung der Kokken nicht unbedingt notwendig sind. Dennoch untersuchte ich, ob sie vielleicht einen begünstigenden Einfluß ausüben. Ich benützte folgende Nährlösungen mit je 5 Proz. Milchzucker und 0,5 Proz. Kochsalz:

1) Pepton	1	Proz.	5) Kasein	3	Proz.
2) „	2	„	6) Asparagin	1	„
3) Kasein	1	„	7) „	2	„
4) „	2	„			

(Jede derselben enthielt Milchzucker 5 Proz. in der 0,5-proz. Kochsalzlösung.)

Das Resultat war folgendes:

Nährlösungen ohne Mineralstoffe (außer Kochsalz)	Schleimigwerden (—) oder nicht (+)	Bemerkungen
1) Pepton 1 Proz.	—	nach 6 Tagen etwas trüb
2) „ 2 „	sehr wenig +	nach 6 Tagen trüb
3) Kasein 1 „	—	nach 2 Tagen etwas trüb
4) „ 2 „	sehr wenig +	nach 1 Tage etwas trüb
5) „ 3 „	sehr wenig +	nach 1 Tage etwas trüb
6) Asparagin 1 „	—	blieb immer klar
7) „ 2 „	—	blieb immer klar

Obgleich die Kokken in diesen Nährlösungen immer wuchsen, fand ich nur bei den unter 2, 4 und 5 bezeichneten mit einiger Schwierigkeit an der Oberfläche etwas Schleimbildung.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

VI. Begünstigung des Wachstums der Kokken durch den Zuckergehalt.

Wir sehen, daß die verschiedenen zuckerlosen Nährlösungen durch die Kokken schleimig werden, so daß nun nur noch die Frage zu entscheiden blieb, ob der Gehalt an Zucker in den Nährlösungen für das Wachstum der Kokken förderlich ist oder nicht. Die folgende Tabelle lehrt uns, daß der Zuckergehalt auf die Schleimbildung in der Tat einen günstigen Einfluß ausübt.

Ich verglich die folgenden Nährlösungen miteinander:

1) Pepton 3 Proz. + Fischers Minerallösung (ohne Zuckergehalt)
2) Kasein 3 „ + „ „ „ „
3) Albumin 3 „ + „ „ „ „
4) Pepton 3 „ + „ „ (5 Proz. Milchzucker)
5) Kasein 3 „ + „ „ 5 „ „
6) Albumin 3 „ + „ „ 5 „ „

Das Ergebnis war das folgende:

Nährlösungen	Schleimigwerden (+) oder nicht (—)	Bemerkungen
1) Pepton (ohne Zucker)	—	nach 2 Tagen etwas trüb
2) Kasein („ „)	+	nach 2 Tagen etwas trüb nach 8 Tagen fadenziehend
3) Albumin („ „)	+	nach 4 Tagen etwas trüb und nach 12 Tagen etwas fadenziehend
4) Pepton (mit Zucker)	+	nach 1 Tage schon etwas trüb nach 9 Tagen fadenziehend
5) Kasein („ „)	+	nach 1 Tage trüb und nach 5 Tagen fadenziehend
6) Albumin („ „)	+	nach 1 Tage etwas trüb und nach 7 Tagen stark fadenziehend

In der zuckerlosen Peptonlösung (1) konnte man viele Diplokokken erkennen; jedoch war bis nach 3 Wochen bei ihr kein Schleimigwerden zu entdecken. Selbst bei der Kaseinlösung und Albuminlösung (ohne Zuckergehalt) dauerte es sehr lange, ehe sie schleimig wurden.

VII. Die Ursache des Schleimigwerdens.

Ueber das Schleimigwerden der Nährlösungen durch Mikroorganismen gab es bis jetzt drei verschiedene Ansichten:

1) Eine schleimige Umwandlung des Zuckers solle die Ursache sein, oder

2) eine Umgestaltung der Eiweißkörper oder

3) eine Quellung der Zellmembran.

Mit der ersten Ansicht brauche ich mich nicht auseinanderzusetzen, da der Erreger der sogenannten Schleimgärung in zuckerhaltigen Lösungen ein anderer ist.

Die zweite Ansicht wird nur von einigen Beobachtern vertreten, ohne daß sie freilich einen Beweis dafür erbringen. Da die Diplokokken in den Asparagin-, Nitrat- oder Ammoniaklösungen wachsen, kann ich in meinem Falle der zweiten Ansicht nicht zustimmen.

Die dritte Annahme wird von denjenigen vertreten, die Schleimigwerden zuckerloser Nährlösungen beobachteten. Aber schon Happ (16)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und **Leichmann** (17) konnten weder durch mikroskopische Untersuchungen, noch durch verschiedene Färbemethoden diese Ansicht bestätigt finden. Ich selbst fand in verschiedenen Nährlösungen, die nie schleimig werden, gleichwohl viele Diplokokken, die unter dem Mikroskope keinen Unterschied der Formen von denen der schleimig werdenden Nährlösungen erkennen ließen. Soll man annehmen, daß die Zellenmembran der Kokken nur in geeigneten Nährlösungen quillt, in anderen aber nicht?

Meines Erachtens kommt man mit den bisherigen Anschauungen über die Natur der Schleimbildung nicht aus. Wenn man nicht eine schleimige Umwandlung der Eiweißkörper, Fette und Kohlehydrate der Nährlösungen als die Ursache betrachten, auch eine Quellung der Zellmembran nicht nachweisen kann, so bleibt nichts anderes übrig, als in den Leibern der Kokken selbst die schleimige Substanz zu suchen. Für diese Auffassung sprechen in der Tat eine ganze Anzahl meiner Beobachtungen.

Ich fand nämlich immer in den Lösungen, in denen sich Schleim bildete, viel mehr Kokken, als in solchen, die nach ihrer Impfung mit Kokken keinen Schleim aufwiesen.

Diese Erscheinung veranlaßte mich, die Zahl der Kokken in den schleimigen Lösungen zn bestimmen. Zu dieser Untersuchung habe ich 1) eine stark schleimige Lösung, 2) eine ziemlich schleimige Lösung, und 3) eine nicht schleimige Lösung angewendet, die alle gleich lange Wachstumsdauer hinter sich hatten. Das Resultat war folgendes:

Name der Nährlösung	Dauer des Wachstums	Zustand nach dem Wachstum	Anzahl der Kokken in der Lösung (in 1 ccm)
1) Bouillon 7 ccm (1 Oese geimpft aus Boillonkultur)	48 Stunden	sehr trüb, stark fadenziehend	15 130 000 000
2) Lackmusmolke 7 ccm (1 Oese geimpft aus Bouillonkultur)	48 Stunden	trüb und ziemlich fadenziehend	12 400 000 000
3) Peptonwasser 7 ccm (1 Oese geimpft aus Bouillonkultur)	48 Stunden	etwas trüb aber nicht fadenziehend	3 540 000 000

Außerdem füge ich gleich noch eine weitere Untersuchung hinzu:

Name der Nährlösung	Dauer des Wachstums	Zustand nach dem Wachstum	Anzahl der Kokken in der Lösung (in 1 ccm)
1) Milch	2 Tage	stark fadenziehend	26 047 000 000
2) Bierwürze	2 „	noch nicht fadenziehend, mit dünner Haut	1 410 000 000
3) Ammonsulfat	2 „	nicht fadenziehend	481 000 000

Diese Versuche lehren: Wenn sich die Nährlösungen zum Wachstum unserer Diplokokken sehr gut eignen, vermehren sich die Organismen, die eine schleimige Substanz enthalten müssen, sehr schnell und machen die Lösungen bald schleimig, während in weniger geeigneten Nährlösungen die Organismen langsamer wachsen und das Schleimigwerden

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

später eintritt oder, bei den am wenigsten geeigneten, gar nicht stattfindet.

Die Verschiedenheit der Befunde zeigt, daß das Schleimigwerden mit der Vermehrung der Mikroorganismen in Zusammenhang steht. Daß es in einer Quellung der Zellenmembran besteht, ist nicht wahrscheinlich, sondern nur daß es durch die ungeheure Anhäufung von schleimigen Mikroorganismen zu stande kommt.

VIII. Literatur.

Ueber Schleimbildung sind schon sehr zahlreiche Untersuchungen angestellt worden, nach denen die Erreger Bacillen oder Mikrokokken sein können. Die Forscher, die Mikrokokken als Erreger angeben, fanden meistens Streptokokken.

Nur Weigmann und Ratz sagen, daß der Erreger der Schleimbildung oft in der Form der Diplokokken auftrete. Weigmann (1) meint: Der Erreger der „langen Wei", der sogenannte Weicoccus, tritt häufig als Diplococcus oder in 4—10-gliedrigen Ketten auf. Das Temperaturoptimum der Weikokken liegt zwischen 30° und 40° C, das Temperaturminimum bei 14° C. Dieselben gedeihen nur auf Milch oder Milchpeptongelatine. In Stichkulturen wachsen sie weißlich und ziemlich uncharakteristisch längs des Stichkanals, und nur sehr mangelhaft an der Oberfläche der Peptongelatine. Sterilisierte Milch wird bei 25° C schon nach 12—15 Stunden ohne irgend welche Gasentwickelung fadenziehend, worauf dann später Säurebildung (wahrscheinlich Milchsäure) und Gerinnung des Kaseins in Form sehr kleiner Partikelchen erfolgt. Er hielt den Schleim der „langen Wei" für umgewandeltes Eiweiß, da sich in fadenziehender Molke gleichzeitig mit der noch vorhandenen geringen Menge Kasein eine sehr zähe schleimige Masse absetzte.

Bei Ratz (2) heißt es: „Der Schützsche Micrococcus schleimiger Milch wurde von dem genannten Forscher aus einer von Marne (Schleswig) stammenden Milch gezüchtet, die eine reichliche, beim Stehen schleimig-zähe werdende Rahmschicht aufwarf. Derselbe besitzt eine ovale Form (0,00215 mm lang und 0,0012 mm breit) und färbt sich mit wässeriger Gentianaviolettlösung sehr gut. Meist tritt er in Form von Diplokokken auf, die von einer schwach färbbaren Kapsel umgeben sind. Die nicht verflüssigenden Kolonieen auf Pepton-Gelatine erscheinen bei Zimmertemperatur nach 24 Stunden in Form kleiner, weißer Pünktchen auf der Platte, welche sich am 3. Tage zu grauweißen, stecknadelkopfgroßen Kügelchen entwickelt haben. Bei den Pepton-Gelatine-Stichkulturen geht das Wachstum im Stichkanal schneller vor sich als an der Oberfläche. An beiden Orten entwickeln sich kleine, glasig durchscheinende Kügelchen, welche lange Zeit isoliert bleiben. Auf Agar-Agar bilden die Kolonieen glasige Tröpfchen, die nach einigen Tagen zu einem feinen, durchsichtigen, schwach glänzenden Belage auswachsen. 2—3 Wochen alte Plattenkolonieen sind von einem unebenen, radiär gestreiften Rande umgeben. In sterilisierter Milch kultiviert, verursacht er bei 22° C nach 30—40 Stunden eine Fällung, wobei sich unter dem Rahm eine dünne Schicht von Molkenflüssigkeit ausscheidet; am Boden des Gefäßes befinden sich schwach geronnene, klebrige und schleimige Kaseinmassen. Bei 33—35° C tritt in Milchkulturen keine eigentliche Gerinnung ein; wohl aber scheidet sich aus der sauer reagierenden Flüssigkeit nach 8 Tagen eine den Wänden des Gefäßes fest anhaftende schleimige

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Masse ab. Sonst gedeiht dieser Coccus noch sehr gut in neutraler oder schwach alkalischer Molkenflüssigkeit, hingegen nicht in Fleischbrühe, flüssigem Blutserum, sowie in Abkochungen von Gerste, Hafer, Roggen, Weizen, Linsen und Erbsen.“

Nach Pasteur (3) läßt sich die Schleimgärung durch folgende Formel zum Ausdruck bringen.

$$25\,(C_{12}H_{22}O_{11}) + 25\,(H_2O) = 12\,\underset{\text{Gummi}}{(C_{12}H_{20}O_{10})} + 24\,\underset{\text{Mannit}}{(C_6H_{14}O_6)} + 12\,CO_2 + 12\,H_2O.$$

Monoyer (4) erklärt, daß die Veränderung des Zuckers durch zwei voneinander unabhängige Vorgänge zu stande kommt, nämlich:

$$1)\;\; 13\,(C_{12}H_{22}O_{11}) + 25\,(H_2O) = 24\,\underset{\text{Mannit}}{(C_6H_{14}O_6)} + 12\,CO_2$$

$$2)\;\; 12\,(C_{12}H_{22}O_{11}) = 12\,\underset{\text{Gummi}}{(C_{12}H_{20}O_{10})} + 12\,H_2O.$$

Schmidt-Mühlheim (5) fand einen Streptococcus in der fadenziehenden Milch. Er impfte mit dem Coccus verschiedene Kasein- oder Albuminlösungen einerseits und Zuckerlösungen andererseits, und nahm wahr, daß das Gärungsmaterial von den Zuckerarten geliefert wird, denn nur letztere, aber nie die Albuminlösungen, wurden fadenziehend.

Hueppe (6) bezeichnet kleine Kokken als Erreger der schleimigen Milch. Diese leider nicht näher beschriebenen Arten erzeugen aus einem Teil des Zuckers Viskose, eine Gummiart, die sich in fadenziehendem Weine findet.

Duclaux (7) nennt als Urheber der fadenziehenden Milch ein unbewegliches und mit einer Hülle umgebenes Kurzstäbchen, welches öfters Ketten bildet. Bei der Kultur in Milch umgeben sich die Stäbchen mit einer dicken lichtbrechenden Hülle und verwandeln die Milch allmählich in eine zähflüssige Masse von durchscheinender Beschaffenheit.

Löffler (8) züchtete einen Bacillus aus fadenziehender Milch. Dieser stellte ein ziemlich dickes, leicht gebogenes Stäbchen dar, welches mit außerordentlicher Schnelligkeit in kleine kokkenähnliche Segmente zerfiel. Seine Beobachtung lehrte, daß diese Körnchen keine richtigen Kokken, sondern nur Bruchstücke von Bacillen sind. Es ist nicht sicher festgestellt, ob der Schleim sich aus dem Kasein oder aus dem Milchzucker bildet.

Kramer (9) hat beobachtet, daß die schleimige Gärung nur bei Gegenwart einer genügenden Menge von Eiweißsubstanzen und Mineralstoffen, unter denen phosphorsaures Kali oder Natrium unbedingt nötig sind, stattfindet. Der entstandene Schleim ist ein Kohlehydrat von der Formel $C_6H_{10}O_5$. Auch tritt stets Mannit und CO_2 in größeren oder geringeren Mengen auf.

Der von Bacillus viscosus sacchari Kramer und Bacillus viscosus vini Kramer gebildete Schleim ist nicht als Produkt der Gärung der Nährlösung, sondern als Produkt der Assimilation des Gärungserreges anzusehen, und zwar dürfte der Schleim nichts anderes sein, als gequollene, resp. in Schleim umgewandelte äußere Membranschichten. Mannit und CO_2 sind als Gärprodukte resp. als Produkte der inneren Atmung obiger Bakterien aufzufassen, die aber den Mannit nicht als primäres Produkt bildet, sondern als sekundäres. Primäre Produkte sind Kohlensäure und Wasserstoff, der sich im Status nascendi mit der vorhandenen Glykose zu Mannit verbindet.

Vignal (10) gibt an, daß Bac. mesentericus vulgatus Schleim

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

bildet. Die rein dargestellte Substanz ist in Wasser nicht eigentlich löslich, aber quellbar. In Kupferoxydammoniak ist sie gleich wie die Cellulose löslich, und wie diese liefert sie nach mehrstündigem Kochen mit stark verdünnter Schwefelsäure Glykose. Deshalb faßt Vignal diese zähe Substanz als eine Art von Cellulose auf.

Boekhout (11) isolierte aus einer schleimig geronnenen Milch den Streptococcus hornensis, der die charakteristische Eigenschaft besaß, Nährmedien mit ziemlich hohem Rohrzuckergehalt in eine schleimige Masse umzubilden. Er hält den Schleim für ein Dextran. Die Zerlegung der Saccharose soll nach ihm folgendermaßen verlaufen:

$$C_{12}O_{22}H_{11} = C_6H_{10}O_5 + C_6H_{12}O_6.$$

Bräutigam (12) betrachtete den von seinem Micrococcus gelatinosus erzeugten Schleim ebenfalls als Dextran, da er dieselbe Kaliumacetyl- und Benzoylverbindung lieferte, wie dieses. Er fand ferner in zuckerhaltigem Digitalis-Aufguß den Micrococcus gelatinosus, welcher in Saccharoselösung neben Milchsäure und geringen Mengen Essigsäure Schleim bildete. Eiweißstoffe waren für die Schleimerzeugung nicht nötig.

Emmerling (13) hat den bei der Vergärung des Milchzuckers durch Bacillus lactis aërogenes auftretenden Schleim untersucht; die stickstofffreie Substanz hatte die Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5$. Durch Oxydation mit Salpetersäure entstand Schleimsäure, wodurch die Anwesenheit einer Galaktose erwiesen war.

Van Laer (14) hat zwei sehr ähnliche Spaltpilze (den Bacillus viscosus I und II), welche er stets gemeinsam in fadenziehender Würze und in Bier antraf, eingehend beschrieben. In Anbetracht dessen, daß sie die Fähigkeit besitzen, Milch in sehr charakteristischer Weise fadenziehend zu machen und daß sie in der Natur weit verbreitet sind, liegt die Möglichkeit nahe, daß sie unter bestimmten Umständen gewiß auch als milchwirtschaftliche Schädlinge aufzutreten vermögen. Er hat den Stickstoffgehalt sowohl der an der Oberfläche von Würze wachsenden Zoogloea, als den eines aus der Flüssigkeit fällbaren Körpers bestimmt, und glaubte aus seinen Zahlen schließen zu dürfen, daß die Hüllsubstanz der Bakterien stickstoffhaltig, dagegen die stark quellbare Zwischensubstanz ein Kohlenhydrat sei.

Adametz (15) impfte Bacillus lactis viscosus in Nährlösung, in der keine Spur eines Kohlenhydrates vorhanden war, und er fand dennoch die Bildung der interessanten schleimigen Substanz. Diese Tatsache beweist, daß dieser Körper kein Produkt einer schleimigen Gärung der Kohlenhydrate zu sein braucht. Er vermutet, daß es sich um Quellung der auffallend stark entwickelten Bakterienhülle handelt.

C. Happ (16) isolierte aus einem Digitalis-Infusum einen Bacillus und aus einem Senega-Infusum einen Micrococcus, die er beide als Erreger einer schleimigen Gärung betrachtet. Er hat sie Bacillus gummosus und Micrococcus gummosus genannt. Die Resultate seiner Arbeit sind in folgendem kurz zusammengefaßt:

1) Die Anwesenheit von Rohrzucker ist zu der schleimigen Gärung unbedingt nötig. Bei dem Micrococcus gummosus kann der Rohrzucker durch Malzzucker ersetzt werden. Lösungen anderer Zuckerarten werden durch die beiden Mikroorganismen nicht in schleimige Gärung versetzt.

2) Die schleimige Gärung wird durch Zusatz von Mineralstoffen befördert; jedoch ist deren Anwesenheit nicht unbedingt nötig, da Zucker-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lösungen ohne jeglichen Zusatz ebenfalls schleimig werden. Ebenso sind auch Eiweißstoffe dazu nicht nötig.

3) Der Schleim scheint durch Zersetzung des Zuckers und nicht durch Quellung der Membran zu entstehen, da eine derartige Veränderung durch die verschiedensten Färbemethoden und auch auf andere Weise niemals zu erkennen war.

4) Der Schleim besteht aus einer in Wasser löslichen, in Alkohol und Aether unlöslichen Gummose von der Zusammensetzung $(C_6H_{10}O_5)^n$.

5) Als Nebenprodukte treten bei der schleimigen Gärung stets Mannit, Milchsäure, Buttersäure, Kohlensäure auf. Auch wird ein geringer Teil des Rohrzuckers in Traubenzucker verwandelt.

Leichmann (17) isolierte aus fadenziehenden und schleimig gewordenen Molken einen Organismus, der die gleiche Erscheinung in sterilisierter Milch hervorrief. Derselbe stellt sich dar als ein schlankes, unbewegliches Stäbchen mit abgerundeten Ecken und kommt meist einzeln oder zu zweien, selten in kettenförmigen Verbänden vor. Das Schleimigwerden selbst hängt von der Gegenwart von Zucker ab. Die mikroskopische Untersuchung lehrte, daß es nicht auf eine Quellung der Zellmembran zurückzuführen ist, sondern auf einen aus dem Zucker entstandenen, schleimigen Körper, dessen nähere Identifizierung allerdings nicht möglich war. Sauerstoffzutritt ist für die Bildung nicht nötig.

Henzold (18) stellte den Streptococcus hollandicus in der langen Wei fest. Er nimmt an, daß das Albumin die fadenziehende Substanz liefert.

Hohl (19) hat aus Stroh einen Coccus isoliert, der das Fadenziehen der Milch verursachte. Die Kokken erscheinen als ganz leicht gestreckte Formen, die oft mit den längeren Seiten zu zweien aneinander liegen. Eigentliche streptokokkenartige Gebilde konnte er nie beobachten. Ueber die Natur des gebildeten Schleimes hat er leider keine Untersuchung gemacht.

Schardinger (20) hat aus unreinem Trinkwasser einen Mikroorganismus isoliert. Bei starken Vergrößerungen sind die Organismen in langen Reihen hintereinander gelagert zu sehen. Das Bild hat viel Aehnlichkeit mit einer Streptokokkenkultur. Sterile Milch wird bald fadenziehend und schleimig, unter ziemlich lebhafter Gasbildung. Die Elementaranalyse des Schleims ergab die Formel $C_6H_{10}O_5$.

Burri (21) schreibt über eine schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler-Käserei. Aus unter der Presse befindlichen Emmentaler Käsen traten nach 8—12 Stunden fadenziehende Molken aus. Die Oberfläche dieser Käse zeigte unscharf umschriebene, weißliche Flecken. Die zu den Käsen benutzte Milch gab bei der bei 37—40° ausgeführten Gärprobe ebenfalls fadenziehende Molken. Der Schleimbildner war in der frisch gemolkenen Milch mehrerer Kühe vorhanden. Als sein Sitz muß daher das Innere des Euters betrachtet werden. Das betreffende Bakterium unterscheidet sich vom Bacterium Güntheri nur durch die Fähigkeit, schleimige Zooglöen zu bilden. Es darf wohl mit dem Erreger der langen Wei und der schwedischen Zähmilch in Parallele gestellt werden.

Außer den bisher angeführten Forschern haben über die Schleimbildung die Herren Nocard und Mollereau (22), Hess und Borgeand (23), Guillebeau und Freudenreich (24), Archibald (25), Gruber (26), Seiler (27), Troili-Petersson (28), Harrison und Barlow (29), Düggeli (30) und Löhnis (31) geschrieben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IX. Schluß.

Die Hauptergebnisse dieser Arbeit sind folgende:

1) Der gefundene Erreger der Schleimbildung ist ein Diplococcus, der den Namen Diplococcus viscosus erhält.

2) Der Coccus verbreitet sich nicht nur in tierischen Materialien (wie Milch, Bouillon etc.), sondern auch in pflanzlichen Stoffen (wie Bierwürze, Kartoffel etc.).

3) Der Coccus wächst nicht bei einer Temperatur, die über Bluttemperatur oder niedriger als 6° C liegt.

4) Die Kokken sind streng aërob.

5) Sie bilden kein Gas.

6) Die veränderten Nährlösungen zeigen keine Reaktion von Indol, Ammoniak und Sulfid.

7) Die Kokken wachsen nur auf neutralen oder schwach alkalischen Nährböden. Selbst schwache Säure verhindert das Wachstum.

8) Ohne Kohlehydrate können die Kokken gut wachsen und die Nährlösungen schleimig machen, aber die Anwesenheit der Kohlehydrate fördert die Schleimbildung.

9) Die Anwesenheit der Fettarten hat keinen Einfluß auf die Schleimbildung.

10) Stickstoffverbindungen sind unbedingt notwendig zu dem Wachstum der Kokken.

11) Organische Stickstoffverbindungen passen zu Nährböden viel besser, als anorganische Stickstoffverbindungen.

12) Mineralstoffe sind nicht absolut notwendig, aber ohne dieselben können die Kokken sich nicht so stark entwickeln, daß die Nährlösungen schleimig werden.

13) Die Ursache der Schleimbildung durch den Diplococcus viscosus ist nicht
   1) Umwandlung des Zuckers oder
   2) der Eiweißkörper oder
   3) Quellung der Zellenmembran, sondern die ungeheure Anhäufung der schleimigen Mikroorganismen auf geeigneten Nährböden.

14) Wo andere Beobachter bei zuckerhaltigen Nährlösungen Gasbildung und Verwandlung des Zuckers gefunden haben, liegt ein anderer Erreger als der von mir gefundene Diplococcus zu Grunde.

Literatur.

1) Weigmann, Milchzeitung. 1889. No. 18. p. 982.
2) Ratz, Archiv für wissensch. und prakt. Tierheilkunde. Bd. XVI. 1890. Heft 1/2. p. 100—112.
3) Pasteur, Compt. rend. 1876. 176.
4) Monoyer, Thèse de Strasbourg, 1862; vergl. Happ, Inaug.-Dissertation Basel, 1893.
5) Schmidt-Mühlheim, Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XXVIII. 1883. p. 91.
6) Hueppe, Deutsche mediz. Wochenschr. 1884. No. 48. p. 777.
7) Duclaux, Encyclopédie chimique par Tremy. T. IX. 1887. p. 562.
8) Löffler, Berl. klin. Wochenschr. 1887. No. 33.
9) Kramer, Sitzungsber. der k. Akademie der Wiss. in Wien. Monatsh. f. Chemie. Bd. X. 1889. p. 467—505.
10) Vignal, Le Bacillus mesentericus vulgatus. Paris 1889. p. 14, 88, 179 und 185.
11) Boekhout, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 161.
12) Bräutigam, Pharm. Centralhalle. 1891. No. 25 und 30. Chem.-Ztg. 1891. 15 Rep. 290. Ber. deutsch. chem. Ges. Bd. XXV. 1891. Ref. 863; Chem. Centralbl. Bd. II. 1892. p. 648.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

13) Emmerling, Ber. dutsch. chem.-Ges. Bd. XXXIII. 1900. p. 2477.
14) Van Laer, Extrait des mémoires couronnés et autres mémoires publiés par l'Acad. royale de Belgique. 1889. 3, und Annales Instit. Pasteur. 1900. p. 14, 82.
15) Adametz, Landw. Jahrb. 1891. p. 185.
16) Happ, Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 175.
17) Leichmann, Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XL. III. V. p. 375—398; ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894. p. 122.
18) Henzold, Milchzeitung. 1901. No. 30. p. 262.
19) Hohl, Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1902; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. p. 338.
20) Schardinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902. No. 8. p. 144.
21) Burri, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 192—204 und 371—380.
22) Nocard u. Mollereau, Archiv für Nahrungsmittelkunde. 1889. No. 5.
23) Hess u. Borgeand, Schweizer Archiv für Tierheilkunde. 1888. No. 4.
24) Guillebeau u. Freudenreich, Annales de micrographie. 1890. Sur quelques bactéries produisant le boursouflement des fromages. Separatabdruck p. 13; Landwirtsch. Jahrbuch der Schweiz. Bd. V. 1891.
25) Archibald Bulletin of the Cornell University Agricultural Experiment Station. No. 165. Ithaka. N. Y. 1899.
26) Gruber, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. IX. Bd. 1902. p. 785.
27) Seiler, Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Bd. IX. 1905. Heft 9.
28) Troili-Petersson, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXII. 1899. p. 366.
29) Harrison u. Barlow, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 517.
30) Düggeli, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 45, 224.
31) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 97.

Nachdruck verboten.

Der Einfluss des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien.

[Arbeit aus dem landw.-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **Guido Koestler,**

Assistent der Bernischen Molkereischule Rütti-Zollikofen (Schweiz).

Mit 18 Fig.

Einleitung.

Die Milchsäuregärung darf wohl als die wichtigste der durch Bakterien hervorgerufenen Gärungen bezeichnet werden. Sie greift überall Platz, wo auf natürlichem Wege oder infolge der Bearbeitung und Verarbeitung pflanzlicher Materialien von Seite des Menschen zuckerhaltige Substanzen sich selbst, d. h. der Einwirkung der überall verbreiteten Bakterien überlassen bleiben. Unter den vielen Bakterienarten, welche überhaupt im stande sind, aus Zucker Milchsäure zu bilden, beanspruchen diejenigen eine besondere Beachtung, welche den betreffenden Umwandlungsprozeß in gewisser Reinheit durchführen, die Milchsäure als alleiniges oder wenigstens als weitaus vorwiegendes Gärungsprodukt entstehen lassen. Diese Bakterien kann man als echte Milchsäurebakterien von den übrigen trennen, bei denen die Milchsäure die Rolle eines mehr oder weniger hervortretenden Nebenproduktes spielt.

Eine genauere Beobachtung der unter natürlichen Verhältnissen in zuckerhaltigen Substraten sich abspielenden Gärungsprozesse lehrt, daß in solchen die echten Milchsäurebakterien, zufolge ihrer an stark saure Medien angepaßten Lebensweise zuletzt in der Regel die Oberherrschaft gewinnen, auch wenn das Substrat von Anfang an der Tummelplatz einer

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bunten Reihe verschiedener, ebenfalls säurebildender Arten, z. B. von solchen der Coli- und Aërogenes-Gruppe, war. Die echten Milchsäurebakterien sind es denn auch, welche in gewissen Gärungsgewerben eine für die Qualität der handelsfähigen Gärungsprodukte wichtige Rolle spielen, indem sie gerade zufolge ihres stark entwickelten Säurebildungsvermögens andere als störende Beimengungen sich bemerkbar machende Gärungserreger unterdrücken, oder indem sie durch Einwirkung auf den Zucker und dessen Umwandlungsprodukte oder auch durch Einwirkung auf stickstoffhaltige Substanzen Stoffe erzeugen, welche die Eigenschaften jener Produkte der Gärungstechnik in vorteilhafter Weise beeinflussen. Die Erkenntnis dieser Bedeutung der echten Milchsäurebakterien hat bekanntlich Anlaß zur Einführung der entsprechenden reingezüchteten Arten bezw. Rassen in der Praxis der Gärungsgewerbe gegeben. Es sei hier nur an die Verwendung von Reinkulturen bei der künstlichen Säuerung des Rahmes, bei der Säuerung des Hefegutes der Brennereien und die in neuester Zeit für die Labbereitung der Emmentaler Käsereien benützten Reinkulturen erinnert.

Es leuchtet wohl ein, daß die Verwendung reingezüchteter Gärungserreger, soll sie die beabsichtigte Wirkung erzielen, weitgehende Rücksicht zu nehmen hat auf die Eigenschaften und Eigentümlichkeiten der betreffenden Mikroorganismen. Denn nur in diesem Falle wird man der berechtigten Forderung Genüge leisten können, daß die in den Gärungsbetrieb eingeführten Reinkulturen in gleicher Weise tätig sind, wie ihre im normalen Gärungsbetrieb den natürlichen Entwickelungsbedingungen ausgesetzten Artgenossen.

Zu den für das Leben und die Tätigkeit der Milchsäurebakterien bedeutungsvollsten Faktoren gehört offenbar der freie Sauerstoff. Die Frage nach der Rolle desselben für diese Organismen ist nicht nur allgemein physiologisch wichtig, sondern ihre Beantwortung scheint auch notwendig im Interesse einer sicheren Grundlage für die Anwendung der betreffenden Reinkulturen in der Gärungspraxis. Diesbezügliche Erwägungen meines früheren Lehrers Herrn Prof. Dr. R. Burri und eigene Beobachtungen, die ich in meiner Stellung als Vertreter des chemischen und bakteriologischen Unterrichtes an der Molkereischule Rütti bei Bern machen konnte, haben die Veranlassung zu vorliegender Arbeit gegeben.

Als Ausgangspunkt diente die in den Molken der Emmentalerkäsereien regelmäßig auftretende Milchsäuregärung, an welcher sich anfänglich je nach der bakteriellen Beschaffenheit der verwendeten Milch und des Labes verschiedene Arten beteiligen, während die hohen Säuregrade wohl ausschließlich, wie in der Brennereimaische, im Sauerteig etc., durch Vertreter der Gruppe der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien (Typus des Bacillus acidificans longissimus Leichmann), im vorliegenden Falle durch Bac. casei ε von Freudenreich erzeugt werden. In einem ersten Teil der Arbeit wird der Einfluß des Sauerstoffes auf die Säuerung der als „Rohkultur“ dienenden Käsereimolke zu ermitteln versucht; in einem zweiten Teile sind Reinkulturen der genannten aus solchen Molken gezüchteten langstäbchenförmigen Säurebildner, sowie Reinkulturen des aus spontan geronnener Milch gezüchteten gewöhnlichen Milchsäurebakteriums (Bact. Güntheri Lehm. und Neum.) einer Prüfung auf ihr Verhalten zum freien Luftsauerstoff unterworfen worden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

In der Literatur finden sich nur vereinzelte Angaben, welche sich mit unserem Thema eingehender beschäftigen, und diese beziehen sich zum großen Teil auf experimentelle Studien an Bakteriengemischen.

So verwendete A. Mayer (1) für seine Versuche, die er mit Milch anstellte, als Impfmaterial eine Aufschwemmung von gemahlenem Malz, die er zuvor 24 Stunden lang bei 50° C stehen ließ. Es scheint, daß durch diese Art der Anreicherung ein Langstäbchen die Oberhand gewonnen hatte. Dabei wurde in den unter vollem Luftzutritt stehenden Kulturen die intensivste Milchsäuregärung erhalten gegenüber anderen Kulturen, die mit Erdnußöl bedeckt bezw. durch Quecksilber luftdicht abgeschlossen waren.

Richet (2) findet ebenfalls eine fördernde Wirkung des Luftsauerstoffes auf die Milchsäuregärung und denkt dabei an einen die Gärorganismen kräftigenden Einfluß dieses Gases.

Im Gegensatz dazu konstatierte Höft (3) in seinen bezüglichen Studien mit spontan gerinnender Milch, daß die Säuerung um so rascher fortschritt, je höher die Kulturschicht resp. je kleiner die Kulturoberfläche war.

Auch Neumann (4) erzielte bei der mit Kohlensäure bewegten Würze einen erheblich höheren Säuregrad, als bei durchlüfteter; außerdem findet der genannte Autor in letzterem Falle deutliche Zerfallformen des Milchsäureerregers.

Kayser (5) berührte in seinen Mitteilungen diese Frage und konstatierte in Verbindung mit einem schädigenden Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Milchsäuregärung von Bact. lactis acidi das Auftreten einer größeren Menge flüchtiger Säuren (Essigsäure) in den stark gelüfteten Kulturen. Letzterer Befund wurde durch eine Mitteilung von Barthel (6) bestätigt.

Auch Henneberg (7) studierte an Kulturen von Bacillus Delbrücki den Einfluß des Lüftens und konstatierte eine kräftig hemmende Wirkung; nach dieses Verf. Mitteilungen ist das Vorhandensein von Trebern im stande, die genannte schädigende Einwirkung des Luftsauerstoffes zu kompensieren.

Nach Beijerinck (8) erreicht Lactobacillus Delbrücki bei Luftabschluß eine kräftigere Gärtätigkeit als bei unbeschränktem Luftzutritt; ferner soll der genannte Organismus unter dem Einfluß der Sauerstoffwirkung besonders stark zur Variation neigen.

Marshall (9) findet im allgemeinen in den CO_2-Kulturen von verschiedenen die Milchsäuregärung herbeiführenden Organismen eine kräftigere Säureproduktion, als in den Luftkulturen.

Troili Peterson (10) berichtet über Versuche, die für die Intensität der Milchsäuregärung in verschieden hoher Kulturschicht für Bacterium lactis acidi und Bacillus lactis longi keine Differenzen ergaben.

O. Emmerling (11), welcher im Jahre 1902 in seinem Werkchen „Ueber die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien“ eine Zusammenfassung über die bis dahin erschienenen Arbeiten über die Milchsäuregärung gab, kennzeichnet seine Stellung zur Frage der Bedeutung des Sauerstoffes für diese Gärung durch folgenden Satz: „Daß die Milchsäuregärung hauptsächlich, aber nicht immer, ein aërobiotischer Vorgang ist, haben A. Meyer und Richet bewiesen“.

Schon aus diesen Literaturauszügen ersehen wir, daß die Frage betreffs Sauerstoffwirkung auf die Milchsäuregärung keineswegs für gelöst zu betrachten ist; die sich teilweise widersprechenden Angaben verschiedener Forscher lassen vermuten, daß die zutreffende Antwort weder im einen noch im anderen Sinne gegeben werden kann.

I. Teil.

Versuche über den Verlauf der Säuerung bei spontan säuernden Substraten der Gärungsindustrie unter dem Einflusse eines absichtlich hervorgerufenen wechselnden Sauerstoffzutrittes.

1. Beschaffenheit des Versuchssubstrates.

Als Substrat wählten wir die bei der Herstellung von Emmentalerkäse nach der Labgerinnung sich ausscheidenden Molken. Die betreffenden Versuche wurden zum großen Teil im chemisch-bakteriologischen

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Laboratorium der Molkereischule Rütti bei Bern angestellt. Dieser Umstand gestattete, das Nährsubstrat immer in frischem Zustande direkt dem Käsekessel zu entnehmen.

α) Chemische Zusammensetzung (12).

Zur chemischen Charakterisierung geben die folgenden Durchschnittswerte die nötigen Anhaltspunkte:

Spezifisches Gewicht bei 15° C	Fettgehalt Proz.	Trockensubstanz Proz.	Fettfreie Trockensubstanz Proz.	Milchzuckergehalt Proz.	Aschengehalt Proz.	Säuregrad, frisch Proz.	Gesamtstickstoff Proz.	Gesamteiweiß Proz.	Proteinstickstoff Proz.	Proteinsubstanzen Proz.	Amidstickstoff Proz.
1,0267	0,67	7,11	6,43	5,00	0,50	4,0	0,139	0,885	0,116	0,739	0,024

Unter den freien Säuren herrscht die Milchsäure vor; flüchtige Säuren sind nur in Spuren zugegen.

Für die Asche fanden wir folgende Zusammensetzung:

In Prozent der Gesamtasche					
Kaliumgehalt K_2O	Natriumgehalt Na_2O	Kalkgeh. CaO	Magnesia MgO	Phosphorsäuregeh. P_2O_5	Chlorgehalt
37,02	11,37	11,25	2,43	19,09	17,47

Die Zusammensetzung des Versuchssubstrates ist nur sehr kleinen Schwankungen unterworfen und scheint von vornherein im großen und ganzen einem guten Nährboden für Milchsäurebakterien zu entsprechen.

β) Die Mikroorganismen der Rohkultur.

Da wir es im vorliegenden Falle mit einer Rohkultur zu tun haben, so kann selbstverständlich über die bakteriologische Beschaffenheit nichts Allgemeingültiges ausgesagt werden. Die Bakterienflora wird sich eben zusammensetzen aus den aus der Milch, aus Lab etc. stammenden, sowie aus den auf dem Wege der Verunreinigung beigemischten Keimen. Wenn auch der Artenreichtum der Milchflora und der daraus gewonnenen Molken ein wechselnder, in allen Fällen aber ein großer ist, so sind erfahrungsgemäß für die Milchsäuregärung sowohl die physikalischen wie die chemischen Verhältnisse in einem so hohen Grade bestimmend, daß alle anderen Zersetzungsprozesse bis auf dürftige Anfänge unterdrückt werden. Mit anderen Worten, der Milchzucker, als vorzügliches Gärmaterial, schwach saure Reaktion des Nährmediums und die Gegenwart der nötigen Menge gärkräftiger Milchsäurebildner sichern Art und Umfang der spontanen Gärung einen fast ungestörten Verlauf.

Aus den Arbeiten verschiedener Forscher, die sich speziell mit der Bakteriologie des Emmentalerkäses beschäftigt haben, darf der Schluß gezogen werden, daß die Aufgabe der Erregung der spontanen Milchsäuregärung der Molke hauptsächlich dem Bacterium Güntheri und den von v. Freudenreich (13) zuerst näher untersuchten, von ihm und Thöni (14) beschriebenen Langstäbchen Bacillus casei α, γ, δ und ε zufällt. In neuerer Zeit wird von O. Jensen (15) noch ein Streptococcus dafür verantwortlich gemacht, der vielleicht nichts

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anderes ist, als ein speziell an die betreffenden Verhältnisse angepaßtes Bacterium Güntheri. Nach einer neueren Arbeit von Thöni (16) spielt für die spontane Milchsäuregärung des der Milch zugesetzten Käsereilabes und damit auch der Molke der Bacillus casei ε eine Hauptrolle. Von Wichtigkeit ist ferner für diese speziellen Verhältnisse die unzweifelhaft fördernde Einwirkung gewisser peptonisierender Bakterien, wie überhaupt das Zusammenleben der Milchsäurebakterien mit anderen Kleinlebewesen auf die Gärtätigkeit der ersteren. In dieser Beziehung würde besonders der von O. Jensen (17) beschriebene „verflüssigende Coccus“ (Micrococcus casei liquefaciens) zu erwähnen sein.

2. Allgemeines über Versuchsanordnung.

Während der Fabrikation des Emmentalerkäses wurden jeweils 2 Proben Molken direkt dem Käsekessel entnommen und zwar Probe A vor und B nach dem in der Praxis üblichen Erwärmen auf 54—59° C. Damit sollten zugleich Anhaltspunkte darüber gewonnen werden, ob diese in der Käsereipraxis gebräuchliche Prozedur einen tiefgreifenden Einfluß auf das zu prüfende Verhalten der Molken ausübt.

Als Versuchsgefäße kamen Erlenmeyer-Kolben von 150 ccm Inhalt zur Anwendung; kurz vor Gebrauch wurden diese im Autoklaven sterilisiert. Zum Verschlusse dienten sterile Gummistopfen. Die Beschickung geschah mit ca. 100 ccm Molke.

Der Luftausschluß wurde gewöhnlich durch Wasserstoffeinleitung bewerkstelligt. Der Wasserstoff wurde immer frisch bereitet in einem Kippschen Apparat mit chemisch reinem Zink und einer unter dem Namen Acidum sulfuricum purum bezogenen Schwefelsäure. Das Gas passierte Waschflaschen mit Bleinitrat, Bleisulfat und Silbernitrat, und erst als die Entwickelung einige Zeit im Gange war, wurde noch eine mit frisch bereiteter alkalischer Pyrogallussäurelösung gefüllte Waschflasche vorgeschaltet. Nun geschah die Gaseinleitung nach Art der Gasgewinnung in der pneumatischen Wanne. Das vollkommen mit Molke gefüllte Kölbchen wurde in der Molke selbst gewendet, und in das mit der Oeffnung nach unten gerichtete, in die Molke eingetauchte Versuchsgefäß wurde so lange Wasserstoff eingeleitet, bis das Gasvolumen demjenigen der bei Luftzutritt angesetzten Proben entsprach, d. h. ca. 50 ccm Molke durch den einströmenden Wasserstoff verdrängt waren. In den noch mit der Oeffnung in die Molke eingetauchten Kolben wurde der Gummistopfen von unten her gut eingedreht.

Die Temperatur wurde, sofern kein Thermostat vorhanden war, in großen Wasserbädern durch eine fleißig regulierte Spiritusflamme konstant gehalten. Die in zwanglosen Zeitintervallen gemachten Temperaturnotierungen wurden am Ende des Versuchs zur Berechnung der mittleren Versuchstemperatur herangezogen.

Der Säuregrad gibt an, wie viel Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge zur Neutralisierung von 100 ccm Molke notwendig sind, bei Verwendung von Phenolphtalein als Indikator und 50 ccm Molke. Proben, die nicht sofort auf Säuregrad geprüft werden konnten, wurden gut abgekühlt.

Die Prüfung der Proben nach bestimmten Zeitabschnitten auf ihren Säuregrad gab uns ein Maß für die Geschwindigkeit des Gärverlaufs.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Gleiche Teile Kultur in gleich hoher Schicht unter dem Einflusse einer künstlich hervorgerufenen Luftzufuhr (Schüttelversuche).

Die ersten Versuche sollen zeigen, ob und in welcher Richtung ein Einfluß des Luftsauerstoffes auf die spontane Milchsäuregärung der Käsereimolke besteht.

Zunächst sollte ermittelt werden, welche Bedeutung in genannter Hinsicht denjenigen Sauerstoffmengen zukommt, die durch Schütteln der Kultur einverleibt werden. Es wurden die mit 100 ccm Kultur beschickten Erlenmeyer-Kolben alle halbe Stunden mehrere Mal kräftig geschüttelt und nach 11 Stunden auf den Säuregrad geprüft. No. 1b berücksichtigt zugleich mit entsprechendem Versuchszweck die Kulturen unter Wasserstoffatmosphäre.

Versuch No. 1.

Kultur: Molkenprobe vor dem „Wärmen" des Käses entnommen. Säuregrad frisch 4,0. Versuchstemperatur 40—42° C.

Proben unter	Säuregrad nach 11 Stunden: 1a Luft		1b Luft		1b Wasserstoff	
geschüttelt + oder nicht geschüttelt —	+	—	+	—	+	—
Probe No. I	18,6	18,8	15,8	14,8	19,2	20,0
„ „ II	19,0	19,2	15,4	15,0	23,2	20,1
„ „ III	18,8	18,8	15,0	—	—	—
„ „ IV	18,6	19,6	—	—	—	—

Ein vorteilhafter Einfluß des Schüttelns der Kultur in sauerstoffhaltiger Atmosphäre geht aus diesen Resultaten nicht hervor; hingegen scheint das Halten der Kulturen unter Wasserstoff, ob nun geschüttelt wird oder nicht, einen die Gärung befördernden Einfluß zu haben.

4. Kultur in verschieden hoher Schicht.

Um den Einfluß des Luftsauerstoffes auf die nicht geschüttelte Kultur etwas näher zu verfolgen, wurden 20 Proben Molke in geeigneten Gefäßen (cylindrische Emailbecher) mit gleichmäßig zunehmender Kulturschichthöhe in den Thermostaten à 42° C zur Säuerung eingestellt. Nach 12 Stunden wurde von sämtlichen Proben der Säuregrad ermittelt, und zwar titrierten wir mit Rücksicht auf möglichst zuverlässige Säurezahlen jeweils die ganze Kulturmenge.

Versuch No. 2.

Kultur: Käsereimolke vor dem „Wärmen" entnommen. Säuregrad frisch 4,2.

ccm Molke	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Kulturschichthöhe mm	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70
Säuregrad nach 12 Stunden	18,4	18,0	18,0	18,7	19,0	19,0	20,2	20,1	20,2	20,6

ccm Molke	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
Kulturschichthöhe mm	77	84	91	98	105	112	119	126	133	140
Säuregrad nach 12 Stunden	20,7	20,2	20,6	20,7	21,1	21,4	21,9	22,1	22,2	22,0

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit zunehmender Kulturschichthöhe, mit anderen Worten, mit gleichmäßiger Abnahme des Sauerstoffzutrittes zur Kultur, beobachten wir eine geringe, ebenfalls gleichmäßig verlaufende Zunahme des Säuregrades.

Es wird nun unsere Aufgabe sein, dieses Verhalten der Molken genauer ins Auge zu fassen und zu untersuchen, ob diese Steigerung des Säuregrades mit Höherwerden der Kulturschicht die Folge eines immer vollkommener werdenden Luftabschlusses ist, resp. ob hier der Luftsauerstoff die Rolle eines die Milchsäuregärung hemmenden Faktors spielt.

5. Gleiche Mengen Kultur in gleich hoher Schicht unter dem Einflusse eines absichtlich hervorgerufenen Luftausschlusses.

a) für verschiedene Temperaturen.

Die Proben wurden teils mit, teils ohne Wasserstoff angesetzt, um den Einfluß des Sauerstoffausschlusses kontrollieren zu können.

1 und 2 sind identische Parallelproben.

Versuch No. 3.

		Säuregrad nach 12 Stunden							
Molke No.		I		II		III		IV	
Versuchstemperatur		37	45	37	45	37	45	37	45
Proben mit Luftausschluß	1	14,8	23,2	13,2	20,1	15,0	23,2	13,2	20,3
	2	14,8	19,2	13,0	20,0	15,0	19,8	13,0	19,8
Proben mit Luftzutritt	1	15,0	15,4	13,0	13,0	14,8	15,4	13,0	13,0
	2	15,0	15,8	12,6	13,0	14,6	15,8	13,4	13,2

Die mit Wasserstoff (Luftausschluß) angesetzten Proben bekunden meist eine Steigerung der Säuerungsenergie; dabei scheint die Versuchstemperatur eine hervorragende Rolle in dem Sinne zu spielen, als bei 45° C diese Steigerung eine auffallend größere ist als bei 37° C.

Der folgende Versuch sollte nebenbei dartun, ob bei dieser beträchtlichen Säureproduktion extracellulär verlaufende enzymatische Prozesse im Spiele sind.

Der Ansatz geschah in oben besprochener Weise; je 2 Proben wurden für jede Versuchstemperatur, einerseits mit 2 Tropfen 40-proz. käuflicher Formalinlösung, andererseits mit 1 ccm Chloroform versetzt.

Versuch No. 4.

Säuregrad der frischen Molken 4,0. Versuchsdauer bei 44° C 24 Stunden, bei 37° C 48 Stunden.

Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Molke								
Versuchstemperatur Grad C	Luftzutritt		Luftausschluß		mit Formalin versetzt		mit Chloroform versetzt	
37° C	33,8	34,6	36,0	34,0	4,0	4,1	4,1	4,0
44° C	16,6	17,0	24,0	25,2	4,0	4,0	4,0	4,0

Gestützt auf die bekannte Tatsache, daß von den verwendeten Antisepticis hauptsächlich das Chloroform wohl die vegetative Zelltätigkeit, nicht aber die Tätigkeit der ausgeschiedenen Fermente hemmt, ziehen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wir aus den Ergebnissen des Versuches 4 den Schluß, daß ein enzymatischer Prozeß genannter Art an der spontanen Milchsäuregärung der Molke nicht beteiligt ist. Eine deutliche Förderung der Säureproduktion zeigen wiederum die mit Wasserstoff behandelten Proben.

Um zu untersuchen, ob hierbei vielleicht eine Reizwirkung durch dem Wasserstoff beigemischte Spuren anderer Gase in Frage komme, suchten wir den Ausschluß resp. die Absorption des Sauerstoffes auf verschiedene Art und Weise vorzunehmen. Einmal mochte es wünschenswert erscheinen, zu sehen, ob durch Ansatz der Proben in verschieden hoher Schicht schon der volle fragliche Unterschied erreichbar sei. Es wurde zu dem Zwecke ein Teil der Versuche in Erlenmeyer-Kolben mit 26 mm Flüssigkeitshöhe und ein anderer Teil in großen, 100 ccm fassenden Reagenzgläsern mit 70 mm Flüssigkeitshöhe angesetzt.

Den Sauerstoffausschluß erzielten wir folgendermaßen:

a) in den Erlenmeyer-Kolben:

1. durch Einleiten von Wasserstoff, wie oben beschrieben.

2. Dem vollkommen angefüllten Kolben wurde vorsichtig ein in einer zentralen Bohrung eine 10 ccm lange Glasröhre tragender Gummizapfen aufgesetzt. Dieses Glasrohr wurde so weit eingeschoben, daß die untere Oeffnung desselben mit der unteren Fläche des Stopfens in einer Ebene lag. Beim Aufsetzen des letzteren stieg die Molke in das Glasrohr, lief über, und man konnte nun durch Hin- und Herneigen des Kölbchens die sich nachträglich unter dem Zapfen ansammelnden Luftblasen in das Steigrohr dirigieren. Auf diese Weise gelang es, jedes sichtbare Luftbläschen zu entfernen. Mit einer Kapillare wurde von oben so viel Molke aus dem Steigrohr genommen, daß das Niveau bei der Versuchstemperatur ungefähr 5 cm über dem Zapfen war. Darauf wurde mittelst Kapillare ein ca. 1 cm hoher Paraffinzapfen aufgeschichtet.

b) in den Reagenzgläsern:

1. durch Einleiten von Wasserstoff,

2. durch Aufschichtung von einer ca. 2 mm hohen Paraffinschicht,

3. durch das später zu beschreibende Wrightsche Pyrogallolverfahren (p. 32, II. Teil).

Versuch No. 5.

Säuregrad der frischen Molke 4,0. Versuchsdauer 12 Stunden. Versuchstemperatur 46,5° C.

Versuch No.	Versuch in Erlenmeierkolben, 14 mm Kulturhöhe			Versuch in Reagenzgläsern, 50 mm Kulturhöhe				
	Luft	Wasserstoff	Luftausschluß. Kolben mit Steigrohr	Luft	Wasserstoff	Wasserstoff	Pyrogallolverschluß	Paraffinverschluß
1	12,0	16,0	16,0	16,4	17,6	17,6	18,0	17,4
2	11,4	16,2	17,6	16,0	18,2	20,0	18,0	18,0
3	12,0	16,2	16,0	14,4	18,2	18,7	19,6	18,0
4	12,4	16,2	16,4	16,0	17,6	18,4	18,0	18,0

Schon zwischen den Luftproben in flacher resp. hoher Schicht ergibt sich eine Differenz zu Gunsten der letzteren; den gleichen Erfolg, den man mit einfachem Halten in hoher Schicht erreicht, geben auch die Proben in flacher Schicht (Erlenmeyer-Kolben) mit Wasserstoff resp. bei Luftausschluß. Im übrigen liegt in der Gleichartigkeit der Resultate der Beweis, daß es die Sauerstoffabwesenheit ist, welche die Erhöhung der Gärungsintensität zur Folge hat. Man ist ferner geneigt, anzunehmen, daß mit dem Halten der Kultur in hoher Schicht dasjenige Minimum der Sauerstoffspannung schon beinahe erreicht ist, welches der Milchsäuregärung der Molken am förderlichsten ist.

Daß diese Steigerung der Säuerungsintensität der Molke bei Luftab-

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

schluß eine konstante Erscheinung ist, mag noch durch folgende Tabelle bestätigt werden, in welcher für 2 Molkenproben, die nach 12, 24 und 36 Stunden erreichten Säuregrade, bei einer Versuchstemperatur von ca. 46° C einerseits und 37,5° C andererseits, bei Luftzutritt und Luftausschluß, eingetragen sind.

Versuch No. 6.

Probe A jeweils vor dem „Wärmen" des Käses gefaßt, Probe B nach dem Wärmen desselben gefaßt.

Bezeichnung der Molke		Molke I						Molke II					
Temperatur		46,7° C			37,4° C			45,2° C			37,4° C		
nach Stunden (Säuregrad)		12	24	36	12	24	36	12	24	36	12	24	36
	Kultur												
Probe A	unter Wasserstoff	23,9	40,8	46,7	16,6	22,1	32,0	24,6	34,6	50,1	19,6	35,6	46,0
Probe A	unter Luft	17,9	29,4	41,2	15,8	21,7	30,5	20,0	30,2	40,8	17,8	29,0	36,6
Probe A	Differenz	6,0	11,4	5,5	0,8	0,4	1,5	4,6	3,4	9,3	1,8	6,6	9,4
Probe B	unter Wasserstoff	14,7	26,5	37,9	10,0	23,9	36,8	14,4	24,0	34,0	13,2	26,4	33,5
Probe B	unter Luft	11,1	18,4	33,5	9,5	22,1	33,5	12,8	22,6	32,0	14,4	20,0	36,2
Probe B	Differenz	3,6	8,1	4,4	0,5	1,8	3,3	1,6	1,4	2,0	—1,2	0,4	—2,7

Der Einfluß der Temperatur tritt auch hier wieder scharf hervor. Bei 37° C kann der Luftabschluß nicht nur erfolglos bleiben, sondern sogar eine Depression bedingen. Die Veranlagung der verschiedenen Molken für eine Steigerung der Gärenergie durch Luftausschluß ist eine etwas schwankende; sie schwankt sogar, wie die Tabelle zeigt, innerhalb ein und derselben Molke, je nachdem dieselbe auf die Temperatur von 54—59° C erwärmt worden ist (Probe B) oder nicht (Probe A); ein Zeichen, daß durch das Wärmen ein ziemlich weitgehender Eingriff in die für den Verlauf der Säuerung maßgebenden Verhältnisse erfolgt sein muß.

Versuch No. 7.

Der bei den vorigen Beobachtungen zutage getretene eigentümliche Einfluß der Versuchstemperatur forderte dazu auf, das Wesen dieses Einflusses an Hand einer umfangreicheren Versuchsreihe zu erschließen.

Da mit 12 verschiedenen Temperaturen operiert werden sollte, schieden wir den Versuch in drei Teile, I—III, die im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Resultate unter möglichst gleichartigen Verhältnissen, d. h. an 3 aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführt wurden, nämlich:

Teilversuch	I	für die	Temperaturen	24 —36°	C, 2.	Nov. 1905
„	II	„ „	„	37,5—46°	„ 3.	„ „
„	III	„ „	„	48,0—52°	„ 4.	„ „

Diese Teilversuche dauerten je 10 Stunden und wurden jeweils ausgeführt mit der frischen Molke des betreffenden Tages (vor dem „Wärmen" des Käses)". In Zeiten der Betriebssicherheit in der Käserei konnten wir die Beobachtung machen, daß die Molken aufeinanderfolgender Fabrikationstage auffallend gleichmäßige Säuerungsenergie aufweisen, was die Fehlerquellen, die mit der Teilung des Versuches unvermeidlich verbunden sein mußten, leichter übersehen läßt. Die Verwendung ein und derselben Molke für den ganzen Versuch hätte schon aus versuchstech-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nischen Gründen voraussichtlich größere Unzuverlässigkeiten im Gefolge haben können. Eine Kontrolle bestand übrigens darin, daß wir von den 3 verschiedenen Molken jeweils vor Ansatz des betreffenden Teilversuches eine Probe in den Brutschrank zu 37° C stellten und diese nach 10 Stunden auf Säuregrad prüften.

	$\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 Molke		
Teilversuch No.	I	II	III
Probe unter Wasserstoff	23,0	19,8	20,4
„ bei Luftzutritt	21,2	18,0	18,4

Tabelle I.

Spontane Milchsäuregärung bei Luftzutritt bezw. -ausschluß für die Temperaturen 24—52° C.

Säuregrad nach 10 Stunden.

	Teilversuch I 2. Nov. 1905					Teilversuch II 3. Nov. 1905					Teilversuch III 4. Nov. 1905		
Temperaturschwankungen	51,0 bis 52,0	49,0 bis 50,0	47,5 bis 48,5	45,5 bis 46,5	43,5 bis 44,5	41,0 bis 42,5	39,5 bis 40,0	Thermostat	35,0 bis 36,5	33,5 bis 34,5	31,5 bis 32,5	29,5 bis 30,0	Thermostat
mittlere Temperatur	51,8	49,8	48,1	45,9	43,9	41,8	39,9	37,5	36,0	34,1	32,0	30,1	24,0
Kultur unt. Luftzutritt	5,6	8,2	10,2	18,2	20,2	21,0	20,0	18,0	18,8	15,6	13,0	8,8	7,6
Kultur unt. Wasserstoff	6,2	8,6	18,8	24,8	25,2	25,0	23,6	19,8	18,6	16,0	13,8	10,6	10,2
Differenz zu Gunsten der Wasserstoffkultur	0,6	0,4	8,6	6,6	5,0	4,0	3,6	1,8	−0,2	0,4	0,8	1,8	2,6

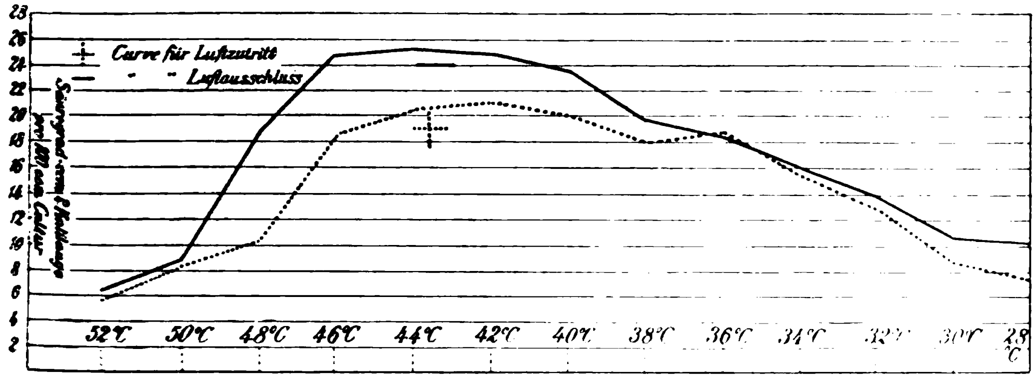


Fig. 1.

Zum Zwecke einer gleichmäßigen Temperierung wurden für die meisten Teilversuche die Kolben in große Wasserbäder eingehängt. Jedes der letzteren enthielt also 4 mit Molke beschickte Kölbchen, wovon je 2 mit und 2 ohne Wasserstoff zum Ansatz kamen. Der Säuregrad der frischen Molken schwankte zwischen 4,0—4,1. Nach je 10 Stunden wurde unterbrochen und auf Säuregrad geprüft.

Siehe Tabelle I mit Kurvenkarte.

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien.

Bacillus esterificans Maassen und Pseudomonas Trifolii nov. spec.

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. Dr. H. Weigmann.]

Von **Harald Huss.**

BOSTON MEDICAL JUN 29 1909 LIBRARY

Mit 5 Tafeln.

Von den beiden Spaltpilzen, deren morphologische und physiologische Charaktere im folgenden behandelt werden, ist schon der eine, Bacillus esterificans, von seinem Entdecker Maasen (11) beschrieben worden. Die wiederholte Beschreibung dieses Pilzes erfolgt hier hauptsächlich, um die Entwickelungsgeschichte desselben, sowie den Einfluß der verschiedenen Ernährungsverhältnisse und Züchtungstemperaturen auf die Morphologie dieser interessanten Bakterie klarzulegen. Pseudomonas Trifolii wurde von mir aus einem Kleeheu isoliert.

Die Eigenschaft, aromatische Körper zu produzieren, kommt vermutlich in höherem oder geringerem Maße jeder Bakterie zu. Diese Stoffwechselprodukte variieren bekanntlich sehr in chemischer Hinsicht Charakteristisch für die hier zu beschreibenden Bakterien ist die Bildung wohlriechender, esterartiger Verbindungen sowohl auf festen, wie auch in flüssigen Substraten.

Da Bacillus esterificans ein sehr angenehmes, obstartiges Aroma in Milch (wie in allen anderen Substraten) erzeugt, habe ich es versucht, durch Butterbereitung festzustellen, ob diese Bakterie sich als Aromabildner für die Butterfabrikation eventuell verwerten ließe. Die Resultate dieser Versuche sind im folgenden aufgeführt. Was die Pseudomonas Trifolii betrifft, bildet schon ihre Eigenschaft, der Milch einen bitteren Geschmack zu verleihen, hierfür ein Hindernis.

Bacillus esterificans Maassen.

Fundort: Maassen fand seinerzeit das Material für seine Studie über den Bacillus esterificans in einer faulenden Lackmuslösung. Ich isolierte die Bakterie aus einer sogenannten „staffigen“ Butter, die dem Laboratorium zur bakteriologischen Untersuchung eingesandt war. Die Butter enthielt große Mengen Penicillium Roquefort und Bacillus odoratus Burri; Bacillus esterificans war nur in geringerer Menge vorhanden. Außerdem habe ich den Bacillus mittels ausgestellter Agarplatten aus der Laboratoriumsluft und der Luft einer Stallung des hiesigen Tierseucheninstituts aufgefangen. Die 2 Minuten in der Stallung offen gestandene Agarplatte wurde 24 Stunden bei 37° C gehalten; nach dieser Zeit hatte sich auf dem Substrat eine Riesenkolonie des Bacillus esterificans entwickelt, die den größten Teil der Schale für sich in Anspruch nahm. Die Figur 26 veranschaulicht einen Teil dieser Kolonie. Ob nun die reichliche „Ausbeute“ diesmal nur ein Zufall war, oder ob die Luft des betreffenden Stalles überhaupt reich an diesem Bacillus war oder ist, habe ich nicht näher untersucht. Aus der Straßenluft oder aus der Luft

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Meierei der Versuchsstation gelang es mir nicht, ihn zu fangen. Diese Fangversuche wurden nur einmal angestellt.

Die Entwickelungsgeschichte und das mikroskopische Aussehen des Bacillus esterificans.

Die Keimung der Spore und die Sporangiumbildung.

Wie aus der folgenden Beschreibung und den Tafelfiguren hervorgeht, weist der Bacillus, welcher gewöhnlich als Langstäbchen auftritt, oft recht beträchtliche Schwankungen in seiner Form und Größe auf, je nach der Zusammensetzung der ihm gebotenen Nährstoffe. Die Züchtungstemperatur übt auch einen sehr großen Einfluß auf die Morphologie und die Wachstumsintensität desselben aus. Bei der Darstellung seiner Entwickelungsgeschichte sehe ich vollständig von diesen Faktoren ab. Die Keimung der Spore und die Bildung des Sporangiums erfolgen in allen Nährmedien in derselben Weise.

Als Ausgangsmaterial für das Studium des Entwickelungscyklus des Bacillus diente eine mit alter Agarkultur geimpfte und 1 Minute in kochendem Wasser gehaltene Bouillon, mit anderen Worten reines Sporenmaterial. Mit dieser Bouillon wurde eine größere Anzahl Agarstrichkulturen angelegt, die, bei 37° C gehalten, mit verschiedenen Zeitintervallen mikroskopisch untersucht wurden. Für jede Untersuchung wurde ein neues Röhrchen genommen, damit die Entwickelung des Striches ohne Störung verlaufen konnte.

Die Spore des Bacillus esterificans (Fig. 6) ist von ellipsoidischer Form, die mehr oder weniger länglich sein kann. Die Größenmaße der mit Karbolfuchsin gefärbten Spore sind die folgenden: Länge 2,7—3,15 μ, Breite etwa 1,2—1,4 μ. Nach 3—6 Stunden konnten keimende Sporen beobachtet werden (Fig. 7). Die Auskeimung des Protoplasten geschieht in folgender Weise. Das eine Ende der Spore platzt (also polare Keimung), der Keimschlauch tritt in Form eines recht dicken Stäbchens heraus und teilt sich mitunter in zwei Zellen, bevor die Sporenhülle verlassen wird. Die jungen Oidien besitzen ein im Vergleich mit den älteren Individuen homogenes Plasma.

Untersuchen wir jetzt ein 18 Stunden bei Bruttemperatur gehaltenes Röhrchen, finden wir hauptsächlich bewegliche Stäbchen (Fig. 1). Nur ganz vereinzelte Sporen, die vielleicht die Keimfähigkeit verloren haben, sind noch vorhanden. Die geraden oder mitunter schwach gebogenen Schwärmoidien sind 1,4—5,2 μ lang bei einer Breite von 0,5—0,7 μ. Die Enden derselben sind abgerundet. Zweizellige Verbände kommen recht häufig vor; die Einzelindividuen dieser Verbände besitzen bald die oben angegebene kleinste, bald die größte Länge der Bakterie.

Eine 24 Stunden alte Agarstrichkultur enthält außer den Schwärmoidien, die hier oft etwas größere Maße aufweisen als die der 18-stündigen Kultur (Fig. 2), eine große Anzahl Stäbchen, die sich auf dem Anfangsstadium der Sporulation befinden (Fig. 3). Dies äußert sich darin, daß der eine Pol des Stäbchens ganz leicht anschwillt; gleichzeitig zeigt dieser eine etwas zugespitzte Form und fällt besonders dadurch auf, daß er sich mit Karbolfuchsin und anderen Farbstoffen kräftiger tingiert als die anderen Partieen des Stäbchens. In den meisten Fällen beschränkt sich diese starke Färbung auf ein an diesem Ende liegendes Kügelchen (Fig. 3), das in ungefärbtem Zustande stark lichtbrechend erscheint und die erste Anlage der Spore repräsentiert. Das Plasma der ruhenden und sporu-

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lierenden Zellen ist auf diesem Stadium der Entwickelung auffallend körnig. Ein Teil dieser „Körnchen“ besteht, wie im folgenden weiter erörtert wird, aus Volutin.

Nach 48-stündigem Verweilen bei 37 ° C ist die Agarstichkultur reich an sporulierenden Stäbchen, Sporangien und Sporen (Fig. 4—6). Hier und da beobachtet man auch unsegmentierte Fäden von oft recht beträchtlicher Länge. Die Entwickelung des sporulierenden Stäbchens zum reifen Sporangium geht aus den Fig. 4 und 5 hervor. Das kleine, polar gelagerte Kügelchen nimmt allmählich an Größe zu, bis es zu einer Spore geworden ist. Parallel diesem Vorgange geht die Anschwellung des sporenhaltigen Endes des Mutterstäbchens. Das reife Sporangium (Fig. 5) besitzt Keulen- oder Kaulquappenform. Der sporenhaltige Pol desselben läuft im allgemeinen in einen Konus aus. Vergleichen wir das Plasma der Stäbchen im Beginn der Sporulation mit dem der reifen Sporangien, so ist ein bedeutender Unterschied zu verzeichnen in der Fähigkeit, Farbstoffe zu speichern. Das Plasma der letzteren zeigt nur eine blasse Färbung. Besonders auffallend bei den mit Karbolfuchsin gefärbten Sporangien ist, daß sich das Plasma des stabförmigen Teiles des Sporangiums oft deutlich von der Spore zurückgezogen hat, wodurch eine helle, ungefärbte Spalte zwischen ihnen entsteht. Bezüglich der Form des stäbchenförmigen Teiles des Sporangiums ist zu erwähnen, daß das Ende desselben mitunter etwas angeschwollen ist. Die Spore verläßt das Sporangium, nachdem die Membran desselben aufgelöst worden ist.

Ein 96 Stunden alter Agarstrich enthält ebenso viele Sporen wie vegetative Stäbchen und Sporangien, wogegen eine 12-tägige Kultur fast reines Sporenmaterial darstellt.

Eigenbewegung.

Wie früher erwähnt wurde, ist der Bacillus beweglich. Auf Grund dieser Eigenschaft und weil er außerdem Plektridien bildet, gehört er zu der Fischerschen Familie Plectridineae. Sein Name würde also nach Fischer Plectridium esterificans sein. Da aber das Fischersche System der Bakterien noch nicht allgemein gutgeheißen worden ist, kann mit der Umtaufe gewartet werden.

Die Bewegungen des Bacillus esterificans, welche bald langsamer, bald rascher vor sich gehen, äußern sich bei den kürzeren Individuen meistens in einer Rotation um ihre Querachse. Vorwärtsbewegungen beobachtet man nicht so oft. Die längeren Schwärmoidien zeigen eine, wie gesagt, raschere oder langsamere Vorwärtsbewegung, die mit Purzelbaumbewegung abwechselt. Die zweizelligen Verbände bewegen sich in derselben Weise wie die Einzelindividuen. Bei mehrstäbigen Verbänden oder bei längeren, unsegmentierten Fäden konnte ich niemals eine Bewegung konstatieren. Dagegen trifft man unter den sporulierenden Stäbchen hier und da ein bewegliches Individuum an.

Der Bacillus ist, wie aus der Fig. 8 erhellt, mit peritrich angeordneten Geißeln versehen. Die Fig. 8 zeigt auch ein in der Sporenbildung recht vorgeschrittenes Stäbchen, das noch begeißelt ist.

Färbbarkeit.

Der Bacillus läßt sich sehr gut mit Karbolfuchsin, Methylenblau, Phenylblau und auch nach der Gramschen Methode (12) tingieren.

Sauerstoffbedürfnis.

Wie aus der Beschreibung der im folgenden aufgeführten, anaërob

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gehaltenen Kulturen hervorgeht, gedeiht der Bacillus leidlich gut in einer Atmosphäre, deren Sauerstoffkonzentration auf ein Minimum reduziert worden oder gleich Null ist; bei intramolekularer Atmung geht die Sporulation langsamer vor sich, als bei aëroben Verhältnissen, auch werden dabei mehr oder weniger abnorm gebaute „Sporangien" gebildet.

Ansprüche an Temperatur und Zusammensetzung des Nährbodens.

Das Wachstumsoptimum des Bacillus esterificans liegt bei 35—37°. Bei so niedriger Temperatur wie 7° C ist das Wachstum äußerst langsam; zur Sporulation kommt es bei dieser Temperatur nicht, soweit meine Beobachtungen reichen (Beobachtungszeit nur 7 Tage!). Bei 18—20° wächst er gut, wenn auch langsam, bei 30° und 42° ungefähr gleich schnell; bei 48° C ist das Wachstum geringfügig, um bei 55° C am Nullpunkt stehen zu bleiben.

Die Zusammensetzung des Nährsubstrates übt einen weit geringeren Einfluß auf die Wachstumsintensität des Bacillus aus als die Züchtungstemperatur. Er vermehrt sich am schnellsten in Bouillon und auf Dextrose enthaltendem Agar, am langsamsten auf Kartoffel und Molkenagar. Das Wachstum ist also am kräftigsten in alkalischen Nährböden. Im übrigen wird in Bezug auf das Gedeihen des Bacillus in den verschiedenen Substraten auf die resp. Kulturversuche hingewiesen.

Die Widerstandsfähigkeit der Sporen.

Ich habe nur die Resistenzfähigkeit der Sporen gegen Hitze geprüft. Eine Spur einer alten, fast ausschließlich aus Sporen bestehenden Agarkultur wurde zu diesem Zwecke in Reagenzröhrchen mit 1,5—2 ccm Wasser von 20° C gemischt und 2—30 Minuten unter stetigem Umschwenken in kochendem Wasser gehalten. Nach dem Erhitzen wurde das Gemisch möglichst rasch abgekühlt und mit ihm Dextroseagar und Magermilch geimpft. Aus den Resultaten der Versuche ging hervor, daß die Sporen ein zehn Minuten dauerndes Erhitzen in kochendem Wasser vertragen, daß dieselben aber durch zwölfminutige Erhitzung ihre Keimfähigkeit verlieren, also abgetötet werden.

Kulturelle Merkmale.

Gelatineplatte (Gelatine 150, Pepton 10, Chlornatrium 5, Fleischwasser 1000, Kalilauge bis zu schwach alkalischer Reaktion). Temperatur: 18—20° C.

1) Natürliche Größe:

a) Oberflächenkolonieen. Nach 2 Tagen beobachtet man auf der Gelatine kleine, punktgroße, gelblich schimmernde, fettglänzende Kolonieen, die meistens von einer ganz leichten, kaum merkbaren Einsenkung in der Gelatine umgeben sind. Ihre Dimensionen sind zu klein, um makroskopisch gemessen werden zu können. Die 3 Tage alten, jetzt mehr graugelben Kolonieen, welche ganz schwach getrübt erscheinen, also nicht mehr lichtbrechend sind, fassen im Durchmesser etwa 0,3 mm. Oft ragen die Kolonieen fast hornförmig aus dem Substrat heraus. Nach 14 Tagen sind diejenigen Kolonieen, welche die Oberfläche der Gelatine erreicht haben, horn- oder knopfförmig, von graugelber oder honiggelber Farbe und besitzen im Maximum ein Diameter von 1 mm. Die Kon-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sistenz der Bakterienmasse ist wie diejenige weicher Butter. Die Kolonieen nehmen von jetzt ab nur wenig an Größe zu. Der Wassergehalt der Gelatine wird natürlich durch Verdunstung immer kleiner, dieselbe bietet somit zusammen mit den sich anhäufenden Stoffwechselprodukten dem Bacillus einen für seine „vegetative" Vermehrung immer ungünstiger werdenden Nährboden, das Wachstum der Kolonie stagniert allmählich. So sind die $1^1/_2$ Monate alten Kolonieen nur wenig größer als diejenigen einer 14-tägigen Kultur. Sie liegen fast auf dem Boden der Kulturschale und sind von einer ringförmigen Einsenkung in der Gelatine umgeben.

b) Tiefenkolonieen. Die Tiefenkolonieen begegnen uns nach 3 Tagen als kleine graue Pünktchen, welche allmählich an Größe zunehmen und nach 14 Tagen als honiggelbe Kügelchen erscheinen.

2) Bei 90-facher Vergrößerung:

a) Oberflächenkolonieen. Nach 2 Tagen kreisrunde, gelbliche oder bräunlich-gelbe, feinkörnig gezeichnete Kolonieen mit glattem Rande. 14 Tage alte Kolonieen haben eine rundliche Form, sind schwärzlich oder rostbraun, undurchsichtig. Der Rand derselben ist glatt und von gelblicher Farbe.

b) Tiefenkolonieen. Eine zweitägige Kolonie erscheint kreisrund, gelblich, halbdurchsichtig, körnig, mit oft konzentrischer Zeichnung; der Rand der Tiefenkolonie ist glatt. Nach 14 Tagen hat dieselbe fast das gleiche Aussehen wie eine ebenso alte Oberflächenkolonie, nur ist die periphere, helle, gelbliche Zone hier bedeutend breiter als bei der oberflächlich gelagerten Kolonie.

Entnehmen wir einer 12 Tage alten Gelatinekultur eine Spur und färben wie gewöhnlich mit Karbolfuchsin, finden wir, daß dieselbe folgende Zusammensetzung hat: Sporangien und Sporen in großer Zahl vorhanden, außerdem gerade oder schwach gekrümmte Stäbchen von etwa 3—6,3 μ Länge und 0,5—0,7 μ Breite. Die Enden der Stäbchen sind abgerundet. Sowohl die Sporangien wie auch die Stäbchen zeigen ein körniges Plasma, eine Differenzierung, die dem Gehalt desselben an Volutinkügelchen ziemlich entspricht. Eine anderthalb Monate alte Gelatinekultur besteht fast ausschließlich aus Sporen.

Gelatinetupfkultur (15-proz. Gelatine).

Betupft man eine Gelatineplatte mit einer kleinen Oese Bouillonkultur des Bacillus, soentsteht nach Verdunstung des Wassers zunächst ein rundlicher, bläulich-grauer, schleierartiger Belag, der nach einem Monat fast dieselbe Größe besitzt. Die Gelatinetupfkolonie wächst also nicht viel in die Breite, sie vermehrt sich nur auf Kosten des in ihrer allernächsten Umgebung liegenden Nährbodens in die Tiefe. Die Farbe desselben wird immer grauer und undurchsichtiger. Unter dem Mikroskope bei 90-facher Vergrößerung betrachtet, bietet eine solche Kolonie folgende Charakteristika: Der Rand derselben ist rauh, mit Ausbuchtungen versehen, das Innere besitzt eine grobkörnige Zeichnung. In älteren Stadien (z. B. einer anderthalb Monate alten Kolonie) erscheint das Innere grobkörnig, hellgelb, während die peripherische Partie aus großen, radiär gestellten, braungrauen, körnigen Schuppen besteht. Der Rand dieser Schuppen ist oft mit lockigen Ausläufern versehen.

Gelatinestich (15-proz. Gelatine).

Der Bacillus esterificans gehört zu denjenigen Bakterien, die kein peptonisierendes Enzym erzeugen. Die Gelatine wird folglich nicht

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verflüssigt. Die Bakterie wächst im ganzen Stichkanal in Form feinster, weißer Körnchen (Fig. 28). Auf der Oberfläche der Gelatinsäule findet kein Wachstum statt. Der Stich behält immer das eben beschriebene Aussehen, nur erweitert sich allmählich durch Eintrocknen der Gelatine der oberste Teil des Stichkanals ein wenig.

Die Stichkultur besteht nach 18 Tagen, wie die mikroskopische Untersuchung ergibt, hauptsächlich aus Stäbchen von der verschiedensten Länge (Fig. 9). Unsegmentierte Fäden von bis zu 70—80 μ Länge werden recht häufig angetroffen. Sporangien und Sporen sind in nicht allzu großer Zahl vorhanden. In einer einen Monat alten Kultur konnte ich unsegmentierte Fäden von bis zu 120 μ Länge beobachten.

Agarplatte (Agar 20, Natriumchlorid 5, Pepton 10, Fleischwasser 1000, Kalilauge bis zu schwacher Bläuung von Lackmuspapier). Temperatur 35—37° C.

1) Natürliche Größe:

a) Oberflächenkolonieen. Nach 24 Stunden höchstens 1 mm im Durchmesser fassende, flache, schleierartige, kreisrunde oder rundliche, bei durchfallendem Lichte bräunlich-graue, auf schwarzem Untergrund blaugraue, glänzende Kolonieen mit einem weißlichen, punktgroßen Zentrum. Die Konsistenz der Bakterienmasse ist dieselbe wie auf der Gelatineplatte. 48 Stunden nach dem Gießen der Platten begegnen uns die Kolonieen als dichtere, graue, mehr oder weniger flach ausgebreitete, unregelmäßige, lappige, 2—3 mm große Belage. 10 Tage alte und ältere Kolonieen besitzen etwa dieselbe Größe, wie diejenigen, welche 48 Stunden alt sind. Der Rand derselben ist mehr weißlich und etwas erhaben; er bildet somit eine Leiste um den inneren, bläulich-grau schimmernden Teil herum. Die optische Oberflächenbeschaffenheit bleibt immer glänzend.

b) Tiefenkolonieen. Die Tiefenkolonieen treten uns bald als horizontal ausgebreitete, rundliche, blaugraue, durchsichtige, den Oberflächenkolonieen ähnliche Scheiben, bald als kleine weißliche, oft wetzsteinähnliche Pünktchen entgegen.

2) Bei 90-facher Vergrößerung:

a) Oberflächenkolonieen. Rundliche oder unregelmäßige, mit kleineren oder größeren Ausbuchtungen versehene, gelbliche, fast durchsichtige, feinkörnig gezeichnete Kolonieen mit zerrissenem oder gezähntem Rande, welch letzterer farblos und nur bei kleiner Blende deutlich sichtbar ist. Das Zentrum einer Oberflächenkolonie ist von braungelber Farbe. Je älter die Kolonieen werden, desto grobkörniger gestaltet sich die innere Zeichnung, welche außerdem oft lockig erscheint.

b) Tiefenkolonieen. Die oben beschriebenen in der Tiefe des Agars liegenden, weißlichen, punktförmigen Kolonieen erscheinen bei 90-facher Vergrößerung als bräunliche, mehr oder weniger kugelige oder wetzsteinförmige Fadenknäuel mit ziemlich langen, in verschiedenen Richtungen hin und herlaufenden, haarfeinen Ausläufern. Die horizontal ausgebreiteten scheibenförmigen Tiefenkolonieen ähneln den Oberflächenkolonieen, besitzen aber oft am Rande lange, lockenförmige Ausläufer.

Was die Zusammensetzung der auf der Agarplatte entstehenden Kolonieen angeht, zeigt die mikroskopische Analyse, daß diese dieselbe ist, wie in einem gleichaltrigen, bei derselben Temperatur gehaltenen Agarstriche. In der unten folgenden Beschreibung der Agarstrichkultur sind die Resultate einer solchen Analyse beschrieben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Agarstrich (2-proz. Agar).

Werden drei Agarröhrchen mit einer 2 Tage alten Strichkultur, also einem Gemisch von Schwärmoidien, Sporangien und Sporen, gleichzeitig geimpft und bei 20° bezw. bei 35° und 40° gehalten, so kann man den Einfluß der Temperatur auf die Entwickelung des Striches schon nach 24 Stunden deutlich beobachten.

Kultur bei 20° C: ein sehr schmaler, dünner Streifen.

Kultur bei 35° C: bedeutend breiter (etwa 2 mm) und dicker.

Kultur bei 40° C: doppelt so breit (etwa 4 mm) als der bei 35° gewachsene Strich. Der Belag ist hier aber sehr dünn, schleier- oder hauchartig.

Die bei 37° C gezüchtete Strichkultur besitzt nach 10—14 Tagen folgende Charaktere: 3—5 mm breit, halbdurchsichtig, auf schwarzem Untergrund grau oder mitunter blaugrau, in durchfallendem Lichte bräunlich. Die Oberfläche derselben ist fettglänzend, oft grobkörnig oder schollig. Der Rand des flachen Belages ist mit kurzen, farblosen Ausläufern und Ausbuchtungen versehen. Das Kondenswasser ist stark getrübt.

Betreffend die Zusammensetzung der bei 37° C gezüchteten Agarstriche ist schon das Wichtigste bei der Besprechung der Entwickelungsgeschichte des Bacillus gesagt worden. Ich möchte hier noch einiges über diese und über die bei anderen Temperaturen gewachsenen Kulturen hinzufügen.

Eine 5 Tage alte, bei 20° C gewachsene Kultur besteht zum größten Teil aus schwärmenden Stäbchen. Sporulierende Zellen und Sporen sind nur in geringer Zahl vorhanden. Vergleicht man also die bei 20° und 37° C gezüchteten Agarstriche makroskopisch und mikroskopisch miteinander, so kommt man zu dem Resultate, daß die Lebensprozesse auf diesem festen Nährboden bei 37° viel schneller vor sich gehen als bei 20° C. Auf die Vermehrung hemmend einwirkende Stoffwechselprodukte werden bei höherer Temperatur in größerer Menge und in kürzerer Zeit ausgeschieden; dem Erhaltungstrieb folgend, schreitet dann der Bacillus zur Sporenbildung.

Bezüglich der Beweglichkeit der Stäbchen ist zu bemerken, daß diese immer mit zunehmendem Alter der Kultur abnimmt. In 24 Stunden alten Brutschrankkulturen (37°) trifft man fast nur Schwärmoidien vor, schon nach 4 Tagen hat aber die Zahl der beweglichen Oidien bedeutend abgenommen.

Wie schon früher erwähnt wurde, benutzte ich zwecks Untersuchung über die Zusammensetzung der Kulturen für jedes Mal einen neuen, unberührten Agarstrich. Diese Anordnung hatte das Ziel, die Kultur sich ungestört entwickeln zu lassen. Wie sich bei einem mit ein und demselben Strich ausgeführten Versuch zeigte, wurde die Sporenbildung des Bacillus durch die alle 24 Stunden stattfindende Störung desselben bedeutend verzögert. Jedesmal wenn etwas Material vom Strich herausgeholt wird, ändert natürlich auch ein Teil der Zellen ihre ursprüngliche Lage. Sie werden etwas zur Seite geschoben, gelangen auf neues Substrat, wo sie frische Nährstoffe, frei von Stoffwechselprodukten, vorfinden, und können sich somit unter den günstigsten Bedingungen wieder eine Zeitlang durch Teilung vermehren.

Agarstich. Temperatur 37° C.

Der auf der Oberfläche des Agars gewachsene Teil der Kultur ist

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer Kolonie der Agarplatte ganz gleich. Im Stichkanal entwickelt sich die Kultur bis zum Boden des Reagenzglases. Der weißlich-graue Stich besitzt im übrigen nichts Charakteristisches.

Dextrose-Agar-Tupfkulturen.

Als Nährboden diente 2-proz. Agar, dem 1, 3 bezw. 5 Proz. Dextrose zugesetzt war. Das in Petri-Schalen erstarrte Substrat wurde mit einem kleinen Tropfen Bouillonkultur betupft und bei 20° C gehalten.

1. 1-proz. Dextroseagar.

Nach 24 Stunden ist auf der Platte eine etwa 2 cm im Durchmesser fassende Kolonie entstanden, die aus einem ganz dünnen, hauchartigen, blaugrauen Belag besteht. Hie und da besitzt diese Kolonie eine rundliche Form, bei den meisten Versuchen, die ich anstellte, erhielt ich aber Kolonieen, die eine große Aehnlichkeit mit den Agartupfkolonieen von Clostridium polymyxa Prazmowski (7) hatten. Die Figur 24 zeigt eine 48 Stunden alte Tupfkolonie. Von dem rundlichen, zentralen Teil laufen einige wenige Verzweigungen in radiärer Richtiung aus, die sich aber immer weiter verzweigen, bis eine Riesenkolonie von dem schönen Aussehen des photographischen Bildes entstanden ist. Mitunter faßt die Kolonie schon nach 48 Stunden etwa 5 cm im Diameter. Die Größe derselben hängt natürlich davon ab, wie groß der Bouillontropfen war, womit die Agarfläche geimpft wurde. Hat die in einer Schale von 10 cm Diameter wachsende Kolonie eine Größe von etwa 5—6 cm erreicht, breitet sie sich gewöhnlich nicht mehr aus. Die bis dahin nicht allzu deutlichen Konturen der Kolonie werden jetzt allmählich besser erkennbar. Die Ränder der Verzweigungen erscheinen mehr und mehr weißlichgrau und erheben sich wie ein Rahmen um das Innere der Bakterienmasse. Die Figur 25 zeigt ein Stück von einer fast kreisrund gewachsenen Tupfkolonie, die zum Teil von einer Penicillium-Art überwuchert war. Der Rand derselben ist besonders schön entwickelt.

Die mikroskopische Untersuchung einer 8 Tage alten Kolonie ergab, daß dieselbe zum größten Teil aus langen Individuen und unsegmentierten Fäden bestand, die alle (in gefärbtem Zustande) meistens 0,85 μ breit waren. Mitunter zeigen die Zellen eine oder mehrere blasenförmige Erweiterungen an ihrem Leibe; diese sind immer sehr reich an chromatischer Substanz. Das Plasma erscheint gewöhnlich stark körnig. Sporulierende Stäbchen und Sporangien werden selten beobachtet.

2. 3-proz. Dextroseagar.

Die Art des Wachstums ist hier dieselbe wie auf 1-proz. D-Agar nur breitet der Bacillus sich auf 3-proz. D-Agar viel schneller aus. Die Kolonieen sind auch bedeutend dünner als auf dem erstgenannten Nährboden.

In gefärbten Präparaten einer 4-tägigen Kultur beobachtete ich dieselben Formen wie in der auf 1-proz. D-Agar gewachsenen Kolonie. Nur konnte konstatiert werden, daß die Zahl der unsegmentierten Fäden hier größer war.

3. 5-proz. Dextroseagar.

Auch hier entwickelt sich die Tupfkolonie wie auf 1-proz. D-Agar; die Ausbreitung über die Substratfläche erfolgt hier aber noch schneller als auf den vorhergehenden Nährböden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was die Morphologie der auf 5-proz. Dextroseagar gewachsenen Zellen angeht, ist die interessante Erscheinung zu verzeichnen, daß die Stäbchen und Fäden hier beträchtlich dicker sind als auf 1-, resp. 3-proz. Dextroseagar. Die meisten Individuen sind 1,10—1,20 μ breit. Sporangien werden noch seltener beobachtet als in den Kulturen auf dextroseärmerem Substrat. Die sehr zahlreich vertretenen, unsegmentierten Fäden messen bis zu 170 μ Länge. Zellen, die an einer oder mehreren Stellen des Körpers blasen- oder keulenförmig angeschwollen sind, werden recht oft beobachtet. Bei Färbung mit Karbolfuchsin erscheint das Plasma gewöhnlich körnig. Wie die Fig. 13 zeigt, kommen auch mehrzellige Verbände aus anormal gebauten Individuen vor. Ich möchte hier besonders darauf aufmerksam machen, daß die Fig. 13 nur eine Auswahl der in einem Präparat beobachteten interessantesten Formen einer 5-proz. Dextroseagar-Tupfkultur darstellt; sie soll also kein Bild von der allgemeinen Zusammensetzung einer solchen Kultur geben!

1-proz. Dextrose-Agar-Schüttelkultur.

Temperatur: 37° C.

Es wächst der Bacillus hier in Form kleiner, weißlich-grauer Körnchen oder Kügelchen. Gasbildung wurde nicht beobachtet.

1-proz. Milchzucker-Agar-Stichkultur.

Temperatur: 37° C.

Unterscheidet sich in keiner Beziehung von einer Stichkultur in 2-proz. zuckerfreien Agar.

Molkenagarstrich

(Molke 1000, Agar 20, Chlornatrium 5).

Es bilden sich sowohl in den bei 20° wie in bei 37° C gezüchteten Kulturen nur ganz schmale, dünne, durchsichtige, matte, graue Belege auf dem Molkenagar.

Die Sporenbildung geht viel langsamer vor sich als auf alkalischem Agar. In einer 4 Tage bei 37° C gehaltenen Kultur findet man nur wenige Sporangien. Die Bakterienmasse besteht fast ausschließlich aus Stäbchen, die bis zu 1,15 μ breit und 3—6 μ lang sind. Zellen von bis zu 9 μ Länge kommen recht häufig vor, außerdem wurden unsegmentierte Fäden von variierender Länge beobachtet. Eine große Zahl der Individuen ist an den Polen zugespitzt.

Molkenagar-Tupfkultur.

Temperatur: 37° C.

1) Natürliche Größe: Rundliche oder unregelmäßig geformte, flach ausgebreitete und schleierartig dünne Kolonieen. Im übrigen stimmen ihre Charaktere mit denen einer Agarkolonie überein.

2) Bei 90-facher Vergrößerung: Fast farblos mit schwach braungelbem, fein gezähntem oder ausgebuchtetem Rande. Das Innere der Kolonie ist lockig-gestrichelt. Sie erinnert etwas an eine Oberflächenkolonie der Coli-Bakterien.

Pepton-Molkenagar-Tupfkultur

(Molkenagar + 1 Proz. Pepton). Temperatur 37° C.

Beim Vergleiche einer 4 Tage alten Kolonie mit einer gleichaltrigen auf Molkenagar wird nur in dem Aussehen der Randpartie ein Unterschied zwischen den beiden Kulturen beobachtet. Der Rand ist nämlich

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei der Peptonmolkenagarkultur mit längeren und kürzeren, lockig gebogenen Ausläufern versehen, die der Kolonie eine gewisse Aehnlichkeit mit einer Kolonie von Bacillus Zopfii verleiht.

Bouillon

[Fleischwasser[1]) 1000, Pepton 10, Natriumchlorid 5, Kalilauge bis zu schwach alkalischer Reaktion]. Temperatur: 37° C.

In den ersten Tagen trübt sich die Kultur wenig und bildet auch einen nur geringfügigen Bodensatz. Nach 5 Tagen aber ist die Flüssigkeit stark trübe; am Boden des Kulturglases hat sich ein kräftiger, wolkig-sandiger Bodensatz von grauweißer Farbe angesammelt. Hautbildung wurde niemals, auch in monatealten Kulturen nicht, beobachtet. Die Kultur reagiert mit Lackmuspapier alkalisch und riecht sehr schön nach Aepfeln oder vielleicht richtiger Ananas.

Beim Destillieren der Kultur mit Magnesiumoxyd besitzt das zuerst übergehende Destillat einen kräftigen Ananasgeruch; das zuletzt destillierende riecht nach Trimethylamin und Ammoniak.

Bei der mikroskopischen Untersuchung eines mit Fuchsin gefärbten Ausstrichpräparates einer 7-tägigen Kultur konnten nur Oidien beobachtet werden. Sporangien waren nicht zugegen. Die Stäbchen sind bald kürzer, bald länger, erreichen aber niemals eine größere Länge als 5,6 μ. Zwei- und dreizellige Verbände wurden häufig wahrgenommen.

Bouillon mit 10-proz. Pepton.

Temperatur: 37° C.

Maassen (11, 16) gibt an, daß der Bacillus esterificans in stark peptonhaltiger Bouillon Merkaptan erzeuge. Ich mußte mehrere Versuche mit 5- und 10-proz. Pepton enthaltender Bouillon anstellen, bis es mir gelang, bei einer jungen Kultur einen ganz schwachen Geruch nach Merkaptan festzustellen. Der Merkaptangeruch wird vielleicht zum größten Teil durch den Geruch der Bouillon selbst verdeckt. Einige von mir angesetzte, mit Dextrose, Saccharose oder Melitose versetzte Bouillonkulturen rochen nach 24 Stunden (bei 37° C) recht kräftig nach Merkaptan. Später tritt der Ananasgeruch an seiner Stelle auf.

Bouillon mit 1-proz. Dextrose, bezw. 1-proz. Milchzucker.

Temperatur: 37° C.

Der Bacillus entwickelt sich hier wie in zuckerfreier Bouillon. Gase werden nicht gebildet. Bezüglich der in zuckerhaltigen Bouillonkulturen stattfindenden Säurebildung wird auf die unten besprochenen Versuche hierüber hingewiesen.

Methylenblaubouillon.

Temperatur: 20° C.

Eine mit Methylenblau grünlich-blau tingierte Bouillon war erst am 3. Tage entfärbt. Die durch Schütteln wieder blau gefärbte Flüssigkeit erfuhr später keine Entfärbung.

Bouillonkultur zum Nachweis von H_2S-Bildung.

Zum Nachweis von gebildetem Schwefelwasserstoff wurde Bouillon geimpft, in den oberen Teil des Reagenzglases ein mit Bleiacetat befeuchteter Papierstreifen befestigt und das Glas mit einem Gummihüt-

1) Liebigs Fleischextrakt 10, Wasser 1000.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

chen verschlossen. Nach 48 Stunden Stehen bei 37° C war die untere Hälfte des Streifens braun, bezw. schwarz und silberglänzend gefärbt.

Säurebildung in mit verschiedenen Alkoholen und Kohlehydraten versetzter Bouillon.

Der zum Studium des Säurebildungsvermögens benutzte Nährboden wurde folgendermaßen hergestellt: Sterile Bouillon (Liebigs Fleischextrakt 10, Pepton 10, Chlornatrium 5, Wasser 1000, Kalilauge bis zur schwachen Bläuung von Lackmuspapier) wurde mit Pseudomonas coli geimpft und 12 Stunden bei 37° gehalten. Von der so entzuckerten Nährlösung wurden nach der Sterilisation (10 Minuten bei 121° C) je 50 ccm auf Erlenmeyer-Kolben à 200 ccm gefüllt und mit 1 Proz. von dem betreffenden Alkohol bezw. Kohlehydrat versetzt. Nach nochmaliger Sterilisation (1/2 Stunde im Dampftopf) bekam jeder Kolben einen Zusatz von einer vollen Oese einer 24 Stunden alten Bouillonkultur des Bacillus esterificans. Die Kulturen wurden bei 37° C gehalten und nach 12 Tagen titriert. Als Indikator diente 1-proz. Phenolphtaleinlösung. Um den Farbenumschlag deutlich erkennen zu können, wurde der Inhalt eines jeden Kolbens auf 100 ccm verdünnt und von diesen 25 ccm in einer Porzellanschale nach Zusatz von 5 Tropfen des Indikators mit $\frac{n}{4}$ NaOH titriert.

Die Versuche wurden 2mal ausgeführt.

Die Resultate sind in den nachstehenden Tabellen zusammengestellt.

Versuch I.

Nährlösung	Ungeimpft	Geimpft	Nach Abzug der von der ungeimpften Nährlösung verbrauchten $\frac{n}{4}$ NaOH
Bouillon	0,30 ccm	0,35 ccm	0,05 ccm
„ + Mannit	0,30 „	0,45 „	0,15 „
„ + Arabinose	0,50 „	0,95 „	0,45 „
„ + Xylose	0,50 „	0,95 „	0,45 „
„ + Dextrose	0,33 „	1,00 „	0,67 „
„ + Saccharose	0,30 „	1,00 „	0,70 „
„ + Laktose	0,30 „	1,05 „	0,75 „
„ + Raffinose	0,30 „	1,10 „	0,80 „

Versuch II.

Nährlösung	Ungeimpft	Geimpft	Nach Abzug der von der ungeimpften Nährlösung verbrauchten $\frac{N}{4}$ NaOH
Bouillon	0,30 ccm	0,35 ccm	0,05 ccm
„ + Mannit	0,30 „	0,42 „	0,12 „
„ + Arabinose	0,50 „	0,97 „	0,47 „
„ + Xylose	0,50 „	1,00 „	0,50 „
„ + Dextrose	0,35 „	1,00 „	0,65 „
„ + Saccharose	0,30 „	1,00 „	0,70 „
„ + Laktose	0,30 „	1,00 „	0,70 „
„ + Raffinose	0,30 „	1,08 „	0,78 „

Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Menge der in 50 ccm Nährlösung in 12 Tagen bei 37° C gebildeten Säure, in $\frac{n}{4}$-Lösung ausgedrückt.

Nährlösung	Kubikcentimeter $\frac{1}{4}$-Normal-lösung
Bouillon	0,20
„ + Mannit	0,54
„ + Arabinose	1,84
„ + Xylose	1,90
„ + Dextrose	2,64
„ + Saccharose	2,80
„ + Laktose	2,90
„ + Raffinose	3,16

Bei seinen Studien über die Einwirkung der Bakterien auf Zuckerarten hat Segin (17, 18) nur wenige Bakterien angetroffen, die Arabinose, Xylose und Raffinose unter Säurebildung verarbeiten. In Raffinose enthaltenden Nutrosenährlösungen bewirkten die benutzten Bakterien, „keine zweifellose Koagulation“. Aus der letzten Arbeit Segins (18) geht hervor, daß Arabinose und Xylose von Bacterium coli und Bacillus enteritidis, dagegen nicht von Bacterium typhi, Paratyphi, acidi lactici, vulgaris und Vibrio cholerae angegriffen werden. Nach Emmerling (12, p. 90) verarbeiten gewisse „Buttersäurebakterien“ Arabinose zu Buttersäure.

Wie aus den vorstehenden Tabellen erhellt, bildet Bacillus esterificans aus Raffinose relativ reichliche Mengen Säure. Arabinose und Xylose werden auch von der Bakterie vergoren, wenn auch nicht in der Menge wie Raffinose. Die aus der Laktose gebildeten Säuren scheinen ohne Einwirkung auf das Milchkasein zu sein, oder die in Milch entstehende Menge derselben ist zu klein, um eine Zerlegung der Kaseinverbindung der Milch durchzuführen. Wie aus der nachfolgenden Beschreibung der Milchkulturen hervorgeht, bringt nämlich Bacillus esterificans Milch nicht zum Gerinnen.

Nachweis von Indolbildung.

Für diesen Zweck benutzte ich eine Lösung von Pepton 10 und Chlornatrium 10 in 1000 ccm Wasser. Die mit einer jungen Agarstrichkultur geimpfte Nährlösung wurde 10 Tage bei 37 ° C gehalten und nach dieser Zeit auf Indol mit 10-proz. Schwefelsäure und einigen Tropfen 1-proz. Kaliumnitritlösung geprüft. Die Prüfung fiel negativ aus.

Das Reduktionsvermögen gegenüber Kaliumnitrat.

Als Nährboden diente die „Indolnährlösung“, welche mit 1-proz. Kaliumnitrat versetzt war. Da das Reduktionsvermögen des Bacillus esterificans ein ganz geringes ist, benutzte ich zum Nachweis des gebildeten Nitrites eine Lösung von Naphtylamin und Sulfanilsäure in sehr verdünntem Alkohol (siehe 10!). Eine 4 Tage alte, bei 37 ° gehaltene Kultur gab mit diesem Reagenz nach ganz leichtem Erwärmen eine schwache Rotfärbung. Mit Jodkaliumstärkekleister und Schwefelsäure war weder in jungen noch in älteren Kulturen Nitrit nachzuweisen.

Milchkulturen.

Maassen gibt an, der Bacillus bringe Milch zu schwacher Gerinnung.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Für meine Kulturversuche benutzte ich Magermilch mit etwa 0,1-proz. Fettgehalt. Die Kulturen wurden teils in Reagenzgläsern und Kölbchen, teilt in mit Milch fast vollständig gefüllten Flaschen mit Patentverschluß angesetzt, sie wurden bei verschiedener Temperatur gehalten (13—14° bezw. 20° und 37° C), einige Reagenzröhrchen hielt ich längere Zeit unter vollständigem Luftabschluß über alkalischer Pyrogallollösung, eine Koagulation der Milch konnte aber in keinem einzigen Falle nachgewiesen werden.

Alle Kulturen in Milch besitzen einen sehr schönen Ananasgeruch.

In den Milchkulturen sporuliert der Bacillus, soweit meine Beobachtungen reichen, nicht. Es wurden nur Schwärmoidien von relativ geringer Größe, einzeln oder in zweizelligen Verbänden beobachtet. Die längsten Stäbchen waren 3,5 μ lang, die Breite derselben variierte zwischen 0,4—0,5 μ. Die Zellen waren an den Enden abgerundet.

Das Verhalten von Bacillus esterificans in einer Milchkultur zusammen mit einem „Micrococcus lacticus".

Da es von Interesse war, zu erfahren, ob der Bacillus sich in der Gesellschaft einer Milchsäure produzierenden Bakterie behaupten könnte, mit anderen Worten, ob er die Fähigkeit, Ester zu erzeugen, in der Anwesenheit einer Milchsäure in größeren Mengen bildenden Mikroorganismus nicht einbüßen würde, wurde Magermilch mit Bacillus esterificans und einem im hiesigen Laboratorium für Versandkulturen („Säurewecker") benutzten Micrococcus geimpft.

Die bei 37° C gehaltene Kultur war nach 20 Stunden zu einem festen Koagulum geronnen, das ein schwaches Ananasaroma besaß. Der Geschmack der Kultur war sehr angenehm, aromatischer als eine gleichzeitig zum Vergleich angesetzte Kultur des Micrococcus allein. Nach 12 Tagen wurde die Mischkultur wieder einer Geschmacksprüfung unterworfen; sie besaß immer noch einen deutlichen, wenn auch bedeutend schwächeren Ananasgeschmack.

Die Resultate dieser Versuche gestatteten also die Vermutung, daß der Bacillus esterificans vielleicht als aromatisierende Zutat bei der Butterbereitung Verwendung finden könnte.

Ist Bacillus esterificans brauchbar als Butteraromabakterie?

Viele von den auf dem Molkereigebiete tätigen Forschern haben eingehende Untersuchungen angestellt, um für die Butterfabrikation praktisch verwendbare aromabildende Bakterien ausfindig zu machen. Bekanntlich besitzt eine aus pasteurisiertem und mit Hilfe von Milchsäurebakterien gesäuertem Rahm hergestellte Butter ein nur schwaches, von den Säuerungsbakterien erzeugtes Aroma. Es würde hier zu weit führen, über all die Experimente zu referieren, die, um dieses Aroma durch Zusatz spezieller Bakterien zu erhöhen, ausgeführt wurden. Ich begnüge mich damit, auf die von Weigmann (22) in Lafars Handbuch der technischen Mykologie referierten Resultate dieser Studien hinzuweisen. Die letzten, in der genannten Richtung gehenden Versuche wurden von Sewerin (19) mit dem von ihm in saurem Rahm gefundenen Bacillus aromaticus butyri angestellt. Die aus mit dieser Bakterie + Milchsäurebakterien gesäuertem Rahm fabrizierte Butter besaß nach Verlauf von 2—4 Wochen ein angenehmes obstartiges Aroma.

Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die Ergebnisse der von mir mit Bacillus esterificans ausgeführten Vorversuche ließen, wie gesagt, hoffen, daß auch diese Bakterie für den oben genannten Zweck nutzbar gemacht werden könnte. Es wurden also praktische Butterungsversuche angestellt. 0,5 kg sterilisierter Rahm + 50 ccm einer 3 Tage alten Milchkultur des Bacillus esterificans + 50 ccm einer eben geronnenen Milchkultur des vorher genannten „Micrococcus lacticus“ wurden nach 24-stündigem Stehen bei 20° C auf 12° C abgekühlt und dann gebuttert. Die mit sterilem Wasser geknetete Butter wurde ungesalzen in sterilen Gläsern bei 12 bis 14° C aufbewahrt. Als Vergleichsobjekt diente eine gleichzeitig in derselben Weise, aber ohne den Bacillus esterificans fabrizierte Butter, die auch in sterilisierten Gläsern bei 12°—14° C aufbewahrt wurde.

Resultate der Prüfung der beiden Butterproben.

1. Prüfung (am Tage der Butterung):

I. (ohne Bacillus esterificans). Geschmack rein.

II. (mit „ „). Die Butter schmeckt rein und angenehm nach Nußkern. Kein Ananasaroma oder an Ananas erinnernder Geschmack.

2. Prüfung (nach zwei Tagen):

I. Geschmack etwas „ölig“, sonst ganz rein; der ölige Geschmack ist wahrscheinlich auf die etwas weiche Beschaffenheit der Butter zurückzuführen.

II. Geschmack frisch, aber nicht besonders aromatisch.

3. Prüfung (nach vier Tagen):

I. Geruch gut und rein; Geschmack rein.

II. Geruch rein; Geschmack frischer als bei I, im übrigen wie bei der 2. Prüfung.

4. Prüfung (nach vierzehn Tagen):

Kein Unterschied im Geschmack oder Aroma zwischen den beiden Proben wahrnehmbar. Sie schmecken und riechen beide rein. Der Geschmack ist aber etwas fade, was wohl auf die Sterilisation des Rahmes zurückzuführen ist. Irgend eine Geschmacksverbesserung in der mit Bacillus esterificans geimpften Butter ist nicht wahrnehmbar.

5. Prüfung (nach einem Monat):

Ergebnis = der 4. Prüfung.

Bei der mikroskopischen Untersuchung eines gefärbten Ausstrichpräparates der mit Bacillus esterificans geimpften Butter wurden nur vereinzelte Sporen desselben beobachtet.

Das Resultat dieser Versuche war also fast negativ, mit anderen Worten der Bacillus esterificans scheint, soweit man nach diesem einzelnen Versuch beurteilen darf, bei der Aromabildung in der Butter keine hervorragende Rolle zu spielen.

Ein Versuch, in steriler, gesalzener Butter durch Einimpfen von Bacillus esterificans Ananasaroma hervorzurufen, gab negatives Resultat.

Kartoffelkulturen.

A. Bei 7° C kultiviert.
B. „ 20° „ „
C. „ 37° „ „

Das Wachstum des Bacillus esterificans ist auf Kartoffel sehr unscheinbar. Der sich entwickelnde Belag ist sehr dünn, kaum sichtbar,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schwach glänzend, von weißlicher Farbe, wodurch er sich von der mehr gelblichen Oberfläche des Substrates abhebt. Beim Oeffnen des mit einem Wattepfropfen verschlossenen Kulturglases wird ein deutlicher Geruch nach Ananas wahrgenommen.

In makroskopischer Hinsicht beobachtete ich keinen wesentlichen Unterschied zwischen den bei verschiedenen Temperaturen gezüchteten Kulturen.

Beim Vergleich von Färbepräparaten der drei Kulturen konnten aber recht große Unterschiede in der Zusammensetzung derselben konstatiert werden. Zwischen A und B ist der Unterschied, wie die Figg. 10 und 11 zeigen, weniger in die Augen fallend, dagegen zeigt die Kultur C eine von A und B beträchtlich abweichende Zusammensetzung; sie weist eine große Abwechselung in der Gestalt ihrer Individuen auf, wie aus der nachfolgenden Beschreibung des mikroskopischen Befundes erhellt.

Kultur A (7 Tage alt): Ein Gemisch von kurzen und langen, oft dicken und spirillenartig gekrümmten Zellen (Fig. 10); unsegmentierte Fäden sind sehr selten und erreichen höchstens eine Länge von 12 μ. Sporen wurden nicht angetroffen. Das Plasma der Zellen ist durchweg körnig.

Kultur B (12 Tage alt): Die Kultur besteht hauptsächlich aus längeren Individuen, die oft (Fig. 11) eine recht beträchtliche Breite haben. Mitunter sind die Zellen an den Polen zugespitzt. Lange, unsegmentierte Fäden kommen nur selten vor, ebenso sind Sporen und Sporangien nicht zahlreich vertreten. In der Fig. 11 sind auch einige Zellen zu sehen, welche eine mehr oder weniger scharf gebogene, spirillenähnliche Form besitzen; solche Individuen wurden ziemlich häufig in der Kultur angetroffen. Das Plasma war körnig.

Kultur C (12 Tage alt): Außer Stäbchen von wechselnder Länge und langen, unsegmentierten Fäden, welche den größten Prozentsatz der Kultur ausmachen, kommen hier, wie gesagt, die eigentümlichsten Formen vor. Individuen, so wie sie die Fig. 12 zeigt, sind in einer Kultur von oben angegebenem Alter gar nicht selten. Da sind clostridienähnliche Zellen, die im Zentrum oder wenigstens in der Nähe desselben einen sporenähnlichen, sich kräftig färbenden Körper beherbergen, es kommen keulenförmige Stäbchen vor, die große Sporen in dem einen, oft scharf zugespitzten Ende enthalten; weiter treffen wir sehr breite, an beiden Enden spitz auslaufende Individuen an, u. a. m. Alle besitzen sie ein körniges Plasma.

Kulturen in mineralischen Nährlösungen.

Die Versuche wurden teils mit Knopscher Nährlösung (12) allein, teils mit dieser + 1-proz. Mannit, Glycerin, Dextrose oder Saccharose angestellt.

Weder die bei 20°, noch die bei 37° C gehaltenen Kulturen zeigten ein Wachstum.

Anaërobe Kulturen.

Um die Einwirkung sauerstofffreier oder sauerstoffarmer Atmosphäre auf die Wachstumsintensität und die Morphologie des Bacillus zu studieren, wurden 4 Agarröhrchen mit schräger Agarfläche gleichzeitig mit einer jungen, aus Stäbchen bestehenden Kultur geimpft. Zwei von den Röhrchen dienten als Vergleichsobjekte und wurden aërob (bei 20°, bezw. 37° C) gehalten, während die anderen zwei in Buchnerschen

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Röhren über alkalischer Pyrogallollösung unter Verschluß mit einem Gummipfropfen (bei 20 resp. 37° C) gezüchtet wurden.

Resultate der Versuche.

A. Kulturen bei 20° C nach 5 Tagen:

Aërober Strich: Recht breiter, ziemlich dicker Belag. Stäbchen von verschiedener Länge; unsegmentierte Fäden recht häufig. Die Kultur enthält recht viele sporulierende Zellen und Sporen.

Anaërober Strich: Sehr dünner und schmaler Belag. Stäbchen und unsegmentierte Fäden wie in der bei Luftzufuhr gezüchteten Kultur, die kürzeren Zellen sind aber hier mitunter bedeutend breiter als in dieser. Außerdem beobachtet man einzelne Sporen und sporulierende Stäbchen. Als ein interessantes Plus für die über Pyrogallollösung gezüchteten Kulturen sind schließlich die abenteuerlichen Formen zu erwähnen, von welchen die Fig. 14 einige Repräsentanten veranschaulicht. Diese Individuen, die nur ganz selten in dieser Kultur beobachtet wurden, fallen besonders durch ihr aufgeblasenes Mittelstück auf, das auch Anilinfarbstoffe begierig aufnimmt. Die nicht angeschwollenen, stabförmigen Teile der Mißbildungen enthalten ein Plasma, das mehr oder weniger reich an „Chromatin"-Körnern ist. Diese Gebilde sind wohl als anormale Sporangien mit krankhaft großen Sporen anzusehen. In der Fig. 14 ist auch ein Individuum in der linken, unteren Ecke zu sehen, das einem normalen Sporangium recht ähnlich ist; nur ist die Spore außergewöhnlich groß ausgefallen.

B. Kultur bei 37° C nach 40 Stunden:

Aërober Strich: Breiter, relativ kräftiger Strich. Zahlreiche sporulierende Stäbchen, Sporangien und Sporen. In einem Präparat beobachtete ich einmal ein anormal gebautes Individuum von dem Typus der Fig. 14.

Anaërober Strich: Schmaler, unbedeutender Belag. Nur wenige Sporangien und Sporen. Die Kultur ist verhältnismäßig reich an abnormen, zentral aufgeblasenen Individuen (Fig. 14).

C. Es wurden zwei neue Agarstrichkulturen angelegt und 14 Tage aërob, resp. anaërob bei 37° C gezüchtet.

Aërobe Kultur: Wie schon früher erwähnt wurde, besteht der Agarstrich in diesem Alter fast ausschließlich aus Sporen.

Anaërobe Kultur: Der nur ganz schwach entwickelte, schmale, bläulich-graue Strich enthält nur einzelne sporulierende Individuen und Sporen. Die Zahl der anormalen Zellen (Fig. 14) nicht auffallend größer als in einer 40 Stunden alten anaëroben Kultur.

Im Gegensatz zu z. B. Granulobacter butylicum Beijerinck, welcher beim Vorhandensein der geringsten Sauerstoffmengen keine Sporen bildet (12, p. 141), verlangt also Bacillus esterificans Maassen die Anwesenheit freien Sauerstoffs für eine ausgiebige Sporenbildung.

Aus diesen Versuchen geht auch hervor, daß die Anaërobiose die Bildung anormaler Formen begünstigt, die wohl als teratologische Erscheinungen aufzufassen sind.

Mikrochemische Untersuchungen des Protoplasten von Bacillus esterificans.

Von mehreren Seiten wurde früher bekanntlich die Hypothese aufgestellt, die Bakterien seien den Kernen höherer Organismen homologe

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gebilde. Ich erinnere nur an die Arbeiten von Klebs (9), Hueppe (8), Bütschli (2 und 3), Wahrlich (20) u. A., welche Forscher in mehr oder weniger ausgesprochener Weise für die Kernnatur der Bakterienzelle eintraten. Diese Hypothese ist wohl jetzt als aufgegeben anzusehen und durch eine andere (21) ersetzt worden, welche besagt, der Protoplast der Bakterien sei demjenigen anderer lebenden Zellen ähnlich, unterscheide sich aber von diesem dadurch, daß die Kernsubstanz der Bakterienzelle als kleine Körnchen zerstreut im Plasma vorkäme. Meines Erachtens sollte die Tatsache, daß eine große Zahl der Bakterien Sporen bildet — Fischer (5) ist ja sogar der Ansicht, daß alle Bakterien ohne Zweifel auf geeigneten Substraten Sporen erzeugen — ein genügender Beweis dafür sein, daß wir es bei den Bakterien nicht mit Kernhomologa zu tun haben, sondern mit Zellen, denen die Fähigkeit nicht zukommt, einen dem der höher organisierten Pflanzen ähnlichen Kern zu bilden. Denn bis jetzt ist kein Fall, wo der Kern einer Zelle Sporen hervorbrachte, bekannt. Auch die Tatsache, daß der außerhalb der Spore liegende Inhalt eines Bakteriensporangiums sich weniger intensiv färbt (siehe z. B. Fig. 5, Tafel II), als der Protoplast eines Oidiums, spricht dafür, daß ein Plasma, dem bei der Sporulation allmählich ein Teil seiner chromatischen Substanz entzogen wird, wie bei anderen organischen Zellen vorhanden ist. Demnach wird nicht der ganze Protoplast des Oidiums für die Sporenbildung aufgebraucht, es bleibt ein Restkörper übrig, dem wohl eine gewisse Bedeutung bei dem Oeffnen des Sporangiums zukommt. Wie aus dem folgenden hervorgeht, enthält dieses Restplasma oft Volutin.

Die von mir an Bacillus esterificans ausgeführten mikrochemischen Reaktionen hatten keineswegs den Nachweis von Kernsubstanz in der Zelle als Ziel. Ich wollte trotzdem nicht unterlassen, meine Ansicht in der oben behandelten Frage zu äußern.

Die im folgenden besprochenen mikrochemischen Reaktionen beschränken sich auf den Nachweis von Iogen, Glykogen, Fett und Volutin in Kulturen verschiedener Art und verschiedenen Alters.

Iogen.

Iogen nennt Meyer (12) einen der Stärkesubstanz ähnlichen, aber wahrscheinlich mit dieser nicht identischen, bei den Bakterien vorkommenden Reservestoff, der sich mit verdünntem Jodjodkalium blau färbt.

Der Versuch, Iogen in den Individuen jüngerer und älterer, bei 20 und 37° C gezüchteten Agar- und Gelatinekulturen nachzuweisen, gelang mir nicht. Dagegen zeigten sich die Zellen der Kartoffelkulturen recht oft iogenhaltig. Die langen Stäbchen enthielten mitunter mehrere Körnchen, die kürzeren Oidien und die Sporangien nur wenig oder auch nichts von dem Reservestoff.

Glykogen.

Zum Nachweis des Glykogens bediente ich mich, nach Meyers Vorschrift (12), einer verdünnten Jodjodkaliumlösung. Die Reaktionsversuche wurden an Gelatine-, Agar- und Kartoffelkulturen angestellt, gaben aber alle negative Resultate. Glykogen scheint demnach dem Bacillus zu fehlen.

Fett.

Als Fettreagens benutzte ich Sudanglycerin (12). In einzelnen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Individuen einer 48 Stunden bei 37° C gehaltenen Molkenagarkultur konnten allerdings rötlich gefärbte Kügelchen wahrgenommen werden, ich will aber nicht mit Bestimmtheit entscheiden, ob diese Tröpfchen als rot gefärbtes Fett aufzufassen oder ob sie einfach andere stark lichtbrechende, in der Sudanlösung rötlich aussehende Inhaltskörper waren.

In Agar-, Gelatine-, Dextroseagar- oder Kartoffelkulturen habe ich Fett nicht nachweisen können.

Volutin.

Das Volutin, ein eiweißartiger Reservestoff, wurde von Meyer und seinen Schülern (4, 6, 13) bei vielen Bakterien und anderen niederen Pflanzen gefunden. Es tritt in Form kleinerer oder größerer, stark lichtbrechender Kügelchen auf und läßt sich durch eine Reihe mikrochemischer Reaktionen leicht nachweisen. Von diesen führe ich hier die wichtigsten an. Methylenblau und Karbolfuchsin färben das Volutin kräftig blau bezw. rot. Nach Zusatz von 1-proz. Schwefelsäure entfärbt sich das Plasma, die Volutinkugeln treten scharf und sehr schön gefärbt hervor. 5-proz. Schwefelsäure löst den Reservestoff in 10 Minuten, kochendes Wasser und gesättigte Natriumkarbonatlösung ebenso nach wenigen Minuten. Läßt man 5-proz. Sodalösung auf ein mit Methylenblau und 1-proz. Schwefelsäure gefärbtes Präparat einwirken, so erscheint das Volutin nach kurzer Zeit entfärbt. Nach dem Auswaschen mit Wasser kann man die so behandelten Volutinkügelchen wieder mit Methylenblau und Schwefelsäure färben. Die Färbung ist dann, je nach der Einwirkungsdauer der Sodalösung, mehr oder weniger kräftig.

Für den Nachweis des Volutins bei Bacillus esterificans bediente ich mich den eben besprochenen Reaktionen. Die Versuche gaben folgende Resultate:

Agarkulturen: Die Oidien einer 10 Stunden bei 37° C gehaltenen Kultur (Sporen als Ausgangsmaterial) zeigen sich in den meisten Fällen volutinfrei. Nur in vereinzelten Zellen wurde ein Kügelchen beobachtet. In fast allen Individuen einer 24 Stunden alten, bei derselben Temperatur gezüchteten Strichkultur konnte Volutin in wechselnder Menge nachgewiesen werden. Dasselbe war der Fall mit einem Agarstrich, der 12 Stunden bei 37° C und 12 Stunden bei 20° C gehalten worden war. Wie die Fig. 15 zeigt, haben die Volutinkugeln eine variierende Lage in der Zelle, auch ist die Größe derselben wechselnd. Je größer die Oidien sind, desto höher ist der Gehalt derselben an Volutin. Die Sporangien enthalten ein oder zwei Volutinkugeln in dem stabförmigen Teile derselben. Die Lage dieser Kugeln ist wie bei den Oidien verschieden. Gewöhnlich wird ein Kügelchen in der nächsten Nähe der Spore angetroffen (vergl. Fig. 17).

Molkenagarkulturen: Die auf diesem Substrat gewachsenen Oidien und Sporangien verhalten sich bezüglich des Gehaltes an Volutin wie diejenigen der Agarkultur.

Pepton-Molkenagarkulturen: In der Fig. 16 sind einige Zellen einer 24 Stunden alten, bei 37° C gezüchteten Kultur dargestellt. Wie aus dieser Zeichnung hervorgeht, sind die Oidien relativ reich an Volutin, das hier aber meistens in der Form ganz kleiner Kügelchen auftritt und oft außerordentlich unregelmäßig im Plasma verteilt ist.

Gelatineplattenkulturen: Die kürzeren Schwärmoiden einer 14 Tage alten Platte zeigten sich recht arm an Volutin, die längeren, unsegmentierten Fäden dagegen enthielten zahlreiche Kugeln des Re-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

servestoffes. Die Sporangien der Gelatineplatten besitzen wie die der Agarkulturen in ihrem stabförmigen Teil ein oder zwei Volutinkügelchen von wechselnder Größe und Lage (Fig. 17).

Milchkultur: Sowohl kurze wie lange Odien und unsegmentierte Fäden sind volutinhaltig. Je größere Länge die Zellen besitzen, um so zahlreicher treten die Volutinkugeln auf.

Zusammenfassend gehört also Bacillus esterificans zu denjenigen Bakterien, die Volutin als Reservestoff speichern, und zwar sind die älteren Oidien desselben immer reicher an Volutin als die jüngeren. Die Sporangien enthalten auch verhältnismäßig große Quantitäten von dem Reservestoff.

Das Aroma.

Viele Bakterien, die wohlriechende Stoffwechselprodukte erzeugen, verlieren nach kürzerer oder längerer Zeit diese Eigenschaft. Dies scheint nicht der Fall mit Bacillus esterificans zu sein. Er produziert immer noch, nach fast einjähriger Aufbewahrung auf Agar in der Sammlung des Laboratoriums — er wurde im April 1906 von mir isoliert — dasselbe schöne, an Ananas erinnernde Aroma. Der wohlriechende Körper wird auch scheinbar in ebenso großer Menge wie gleich nach dem Isolieren von ihm erzeugt. Läßt man einige mit Watte verschlossene Kulturgläser ein paar Tage im Brutschranke stehen, so schlägt einem beim Oeffnen des Schrankes ein starker Ananasgeruch entgegen. — Wie schon früher erwähnt, wird das Aroma auf allen von mir benutzten Nährböden gebildet.

Pseudomonas Trifolii n. spec.

Pseudomonas Trifolii ist eine gelbes Pigment erzeugende Bakterie, die aus Kleeheu isoliert wurde. Wie der Gattungsname sagt, ist sie ein beweglicher, polar begeißelter Mikroorganismus. Die Speciesbezeichnung bezieht sich auf den Fundort des Pilzes.

Die Fischersche Bezeichnung Bactrinium (5) für monotrich begeißelte Bakterien hätte vielleicht hier Verwendung finden können, da die Pseudomonas Trifolii eingeißelig ist; da es aber, wie Migula (14) angibt, mitunter vorkommt, daß polar begeißelte Bakterienarten eine wechselnde Zahl der Geißeln aufweisen, habe ich der hier beschriebenen Bakterie mit Migula den obengenannten Namen gegeben. Allerdings habe ich keine lophotrichen Individuen von meiner Bakterie beobachtet, es könnte ja aber möglich sein, daß Kulturen, die ich nicht darauf geprüft habe, auch lophotrich begeißelte Zellen aufweisen. Es erscheint mir deshalb am vorteilhaftesten, die Bezeichnung Pseudomonas für alle polar begeißelten Stäbchenarten zu gebrauchen.

Nach meiner Ansicht wäre die systematische Bakteriologie am besten mit einem Mittelding von den Systemen Fischers und Migulas bedient. Eine Verschmelzung der beiden Gattungen Bactrinium und Bactrillum Fischer zu der Gattung Pseudomonas Migula ließe sich wohl auf Grund der von Migula (14) angeführten Variabilität der Cilienzahl gut motivieren. Allerdings würde die Anzahl der Gattungen der Familie Bacillaceae dadurch — ich denke hierbei an das von Fischer aufgestellte System, welches wohl als der beste Vorschlag, der bis jetzt gemacht wurde, angesehen werden muß — von Fischers 8 auf 7 sinken, ich glaube aber nicht, daß „das Taktgefühl für systematische Werte", wie Fischer in seinen „Vorlesungen" (5, p. 62)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sagt, durch diese kleine Reduktion der Gattungszahl beträchtlich vermindert werden würde. Es ist übrigens zu hoffen und wohl sehr wahrscheinlich, daß, sobald die morphologischen und rein cytologischen Merkmale der Bakterien durch verbesserte Arbeitsmethoden eingehender studiert werden können, diese Gattungen sich in mehrere zerlegen lassen.

In jedem Falle ist es höchst wünschenswert, daß eine Einigung um ein von allen Vertretern der Bakteriologie anerkanntes, natürliches System zu stande gebracht wird. Außerdem sollten internationale Vereinbarungen bezüglich der Arbeitsmethoden, der Zusammensetzung der Nährböden etc. getroffen werden. Jeder Bakteriologe sollte also die morpho- und physiologischen Charaktere einer jeden Bakterie, die er identifizieren oder als neue Art klassifizieren wollte, nach festgelegten Methoden zu untersuchen haben. Das Studium der Bakterien würde sich in dieser Weise nicht mehr schablonenartig gestalten als bis jetzt; daß auch hierdurch dem in der bakteriologischen Praxis tätigen Arbeiter große Erleichterungen bei der Bestimmung einer Reihe Bakterien erstehen würden, ist ohne weiteres ersichtlich. Weiter wäre es dann wünschenswert, daß jedes Jahr ein Verzeichnis und dazu eine kurze Charakteristik der im Jahre gefundenen neuen Bakterien ausgegeben würde, ein Verzeichnis, das also als ein Ergänzungsband einer auf den internationalen Vereinbarungen ruhenden Systematik betrachtet werden könnte.

Charakteristik der Pseudomonas Trifolii.

Fundort: Eine Probe Kleeheu wurde dem bakteriologischen Laboratorium von einem Landwirte mit der Bitte geschickt, zu untersuchen, ob das Heu irgendwelche Bakterien enthielte, die als Ursache zu dem bitteren, öligen Geschmacke seiner Butter betrachtet werden könnten. Zur Beantwortung dieser Frage wurde das zerkleinerte Heu mit lauwarmem Wasser geschüttelt und aus dem Infus Gelatineplatten angelegt. Die auf diesen Platten gewachsenen Mikroorganismen bestanden zum größten Teil aus Kolonieen der im folgenden charakterisierten Bakterie. Die Einimpfung dieser Bakterie in Milch ergab als Resultat, das dieselbe wahrscheinlich als Grund des bitteren Geschmackes der Butter anzusehen war.

Außer in diesem Kleeheu habe ich die Bakterie einmal auf Hafer-„Körnern“ gefunden, die auf Gehalt an Milchsäurebakterien untersucht wurden.

Kurze Beschreibung der morphologischen Merkmale.

Pseudomonas Trifolii ist ein kleines Stäbchen, das je nach den Ernährungsverhältnissen als Kurz- oder Langstäbchen auftritt. Seine Länge wechselt von 0,75—2,1 μ, ja, in gewissen Substraten wurden sogar unsegmentierte Fäden von 9—12 μ beobachtet. Das Stäbchen ist 0,5 bis 0,7 μ breit. Zwei- und mehrzellige Verbände kommen häufig vor. Sporenbildung konnte nicht nachgewiesen werden.

Eigenbewegung.

Die Bewegungen der Pseudomonas Trifolii sind in jungen Kulturen sehr lebhaft und bestehen teils in fast blitzschnellen Vorwärtsbewegungen, teils in Kreiseln und Wirbeln an ein und derselben Stelle. Bei den geradlinigen Bewegungen wackelt der Körper hin und her. Oft beobachtet man Stäbchen, die einen Augenblick ganz still

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

liegen, welche plötzlich eine zitternde Bewegung anfangen, um dann nach einer Weile blitzschnell vorwärts zu eilen.

Die Bewegungen werden durch eine lange, polar lokalisierte Geißel unterhalten (Fig. 23).

Färbbarkeit.

Mit Anilinfarbstoffen läßt sich die Bakterie sehr gut tingieren, die Gramsche Färbmethode (12) gibt negative Resultate.

Sauerstoffbedürfnis.

Bei Kultivierung über alkalischer Pyrogallollösung konnte weder auf Agar oder Kartoffel, noch in Bouillon Wachstum konstatiert werden. Die Bakterie verlangt demnach freien Sauerstoff für ihr Gedeihen.

Ansprüche an Temperatur und Zusammensetzung der Nährböden.

Zur Bestimmung der Kardinalpunkte der Temperatur für das Wachstum der Pseudomonas Trifolii wurden Agarstrichkulturen mit jungem Material angelegt. Das Wachstumsoptimum der Bakterie liegt bei einer Temperatur von 33—35° C. Bei 42° C bildet sich auf der Agarfläche ein recht breiter, aber dünner Belag. Bei 48° tritt keine sichtbare Vermehrung ein. Das Wachstumsminimum habe ich nicht bestimmt. Jedenfalls liegt dasselbe recht tief, da die Bakterie noch bei 7° C sehr gut auf Kartoffel gedeiht und auch Farbstoff bildet.

Pseudomonas Trifolii wächst gut auf allen Nährböden; ganz besonders kräftig ist das Wachstum der Kartoffelkulturen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber armenisches Mazun.

[Mitteilung der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel.]

Von Prof. Dr. **H. Weigmann,** Dr. **Th. Gruber** und Dr. **H. Huss.**

Mit 3 Tafeln.

Bereits im Jahre 1898 waren wir durch die Güte des Herrn Prof. Dr. B. Martiny in den Besitz einer Probe Mazun — richtiger eines Stückes Quark aus Mazun, also einer Probe Than — gekommen, welche dem Genannten durch Herrn Dr. A. Kalanthar persönlich überbracht worden war. Diese Probe scheint ein Teil jenes Mazun gewesen zu sein, welches auch von O. Emmerling und später von Kalanthar selbst unter der Leitung von P. Lindner untersucht worden ist.

O. Emmerling[1]) fand in der erwähnten Probe zahlreiche Hefen, worunter eine Anzahl gefärbter Arten, Oidium lactis, einige Schimmelpilze, eine gelbe Sarcina, den Heubacillus, sowie ferner einen die

1) Emmerling, O., Ueber armenisches Mazun. (Diese Zeitschr. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 418.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gelatine schleierartig trübenden, Milchsäure erzeugenden und die Milch zum Gerinnen bringenden Micrococcus und schließlich den Bacillus acidi lactici Hueppe.

Kalanthar[1]) selbst gibt zwei Bacillen, eine größere und eine kleinere Micrococcus-Art, Oidium lactis, eine Mucor- und vermutlich auch eine Aspergillus-Art sowie Hefen als Bestandteile des Mazun an. Im Verfolg der von ihm besonders ins Auge gefaßten Untersuchung, welche die Spaltung der Polysaccharide durch verschiedene Hefenenzyme betraf, hat Kalanthar ganz besonders die Hefen eingehender beschrieben und auf ihr Verhalten gegen die verschiedenen Zuckerarten geprüft.

In der von uns untersuchten Probe aus dem Jahre 1898 isolierte der damalige Assistent der Versuchsstation, Herr Dr. Th. Gruber, außer einigen Schimmelpilzen, welche als Verunreinigung angesehen wurden, ebenfalls Oidium lactis, zwei Gelatine verflüssigende Mikrokokken und mehrere Hefen, von denen uns drei als häufiger auftretend auffielen. Außer diesen Pilzen, welche mit den entsprechenden von den genannten Autoren gezüchteten Arten mehr oder weniger übereinstimmen, fand Dr. Gruber aber noch eine Bacillenart, welche bisher noch nicht gefunden worden war und bisher auch noch unbekannt zu sein schien. Zwar tut O. Emmerling eines dünnen langen Bacillus Erwähnung, den er im ursprünglichen Präparat gesehen hat, dessen er jedoch nicht habhaft werden konnte, es scheint aber, als ob dieser Organismus eher der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterie angehört hat, als jenem von Gruber gefundenen Bacillus. Von diesem, dem Bacillus Mazun, wie wir ihn genannt haben, ist weiter unten eine Beschreibung gegeben, welche teils von Dr. Gruber, teils von Dr. H. Huss, welcher sie wesentlich vervollständigt hat, stammt.

Im Herbst 1906 erschien die Arbeit von M. Düggeli[2]), welcher von einem in Zürich studierenden Armenier, namens Diradourian, 4 Proben Mazun erhalten und auf ihre bakteriologischen Bestandteile untersucht hatte. Düggeli unterwarf nicht das Mazun oder, wie das Konglomerat oft genannt wird, die „Mazunhefe“, selbst, sondern das daraus bereitete Getränke der Untersuchung, annehmend, daß sich auf diese letztere Weise die für das Getränke charakteristischen und bedeutungsvollen Organismen leichter feststellen würden, als bei der Untersuchung der möglicherweise stark verunreinigten ursprünglichen Proben.

Düggeli stellte zunächst fest, daß für die Zubereitung und Fortpflanzung des Mazun die Wärme von 30° C die günstigste ist, was unsererseits, wie noch auszuführen ist, bestätigt werden kann. Als wesentliche Bestandteile des Mazun erkannte sodann Düggeli eine Hefe, von ihm Mazunhefe genannt, eine langstäbchenförmige Milchsäurebakterie und die gewöhnliche Milchsäurebakterie, das Bacterium Güntheri L. u. N. (Streptococcus lacticus Kruse). Die Mazunhefe gibt der Milch ein Fettsäureester-artiges Aroma. Von den Milchsäurebakterien verursacht das Langstäbchen eine ungemein starke Säuerung, welche die bei 30° C geronnene Milch direkt ungenießbar macht.

Kurz vor dem Erscheinen der Düggelischen Arbeit hatten wir, ebenfalls wieder durch die gütige Vermittelung von Prof. Dr. B. Mar-

1) Ueber die Spaltung von Polysacchariden durch verschiedene Hefeenzyme. [Inaug.-Dissertat.] Berlin 1898.

2) Düggeli, M., Bakteriologische Untersuchungen über das armenische Mazun. (Diese Zeitschr. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 577.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tiny, zwei Proben Mazun erhalten, welche wiederum Herr Dr. Kalanthar aus Baku mitgebracht und dem genannten Herrn übergeben hatte. Von den beiden Proben stammte die eine aus einem armenischen Dorfe, die andere aus einer Meierei daselbst. Die beiden, gesondert in Dosen befindlichen quarkartigen Stückcken „Mazun" wurden von Dr. H. Huss untersucht und er fand in jeder derselben die gleichen Mikroorganismen, wenn auch in etwas verschiedenem Verhältnisse. Es war in den beiden Proben vor allem wieder der von uns in den früheren Proben aufgefundene eigenartige Bacillus Mazun anwesend, sodann einige Hefen, von denen die eine ein esterartiges Aroma bildete, ferner eine stark säuernde Milchsäurebakterie, Oidium lactis und die gewöhnliche Milchsäurebakterie, Streptococcus lacticus, die aber die Milch nicht zum Gerinnen zu bringen vermochte. Vorherrschend vor den übrigen Organismen waren der Bacillus Mazun und die stark säuernde stäbchenförmige Milchsäurebakterie. Der Unterschied im Verhältnis der Bestandteile der beiden Proben zueinander bestand lediglich darin, daß in der Probe aus der Meierei der Bacillus Mazun die stäbchenförmige Milchsäurebakterie an Menge übertraf, während in der Probe aus dem armenischen Dorfe das Umgekehrte der Fall war.

Die Analyse dieser beiden neuen Proben hat also beinahe dasselbe Resultat ergeben wie die der früheren Probe, vor allem hat sich erwiesen, daß in allen von uns untersuchten Proben eine Bakterie enthalten war, welche bisher von anderen Bakteriologen, die sich mit dem Mazun beschäftigt haben, nicht gefunden worden ist.

Die Auffindung des Bacillus Mazun in unseren Mazunproben ist um so auffälliger, als diese uns zu so sehr verschiedenen Zeiten, in einer Zwischenzeit von 8 Jahren, zugegangen sind. Der Bacillus Mazun kann also kein zufälliger Begleiter, sondern muß ein dauernder Bestandteil des Mazun sein, wenigstens des Mazun, das uns zur Untersuchung vorgelegen hat, denn in Anbetracht des Umstandes, daß die Isolierung des Bacillus Mazun größere Schwierigkeiten nicht bereitet, erscheint die Annahme berechtigt, daß die von derselben Person überbrachten Proben auch aus ein und derselben Gegend Armeniens stammen, während die von Düggeli untersuchten Proben wahrscheinlich anderer Herkunft gewesen sind und daß somit die biologischen Bestandteile des Mazun je nach dem Entstehungs- und Gebrauchsorte verschieden sein möchten.

Die folgenden Beschreibungen nebst den dazu gehörigen Photographieen und Zeichnungen sollen zunächst Kenntnis von den von uns isolierten Mikroorganismen geben.

Bacillus Mazun (Gruber und Huss).

Nach der Beschreibung von Dr. H. Huss (die photographischen Aufnahmen sind zum größeren Teile schon von Dr. Th. Gruber, teils auch von Dr. Huss gemacht, die Handzeichnungen hat Dr. Huss gefertigt).

Mikroskopisches Aussehen: Stäbchen, die doppelt bis vielfach so lang als breit sind. Sie sind sporenbildend.

Die Sporen sind länglich-oval, mit Karbolfuchsin gefärbt 1,2—1,4 μ lang und 0,4—0,6 μ breit. Sie erscheinen oft etwas unregelmäßig; die eine Längsseite ist oft gerade oder schwach konkav (vielleicht ist diese öfters beobachtete Form aber auch ein Kunstprodukt).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bringt man die Sporen auf Agar und läßt man sie auf diesem im Brutschrank bei etwa 34° C 1 Stunde stehen, so fangen sie an zu keimen. Das Keimen ist aber nur ein direktes Auswachsen der Spore zu einem neuen Stäbchen. Ein Keimen im gewöhnlichen Sinne dieses Wortes findet nicht statt. Vor dem Keimen schwillt die Spore relativ gewaltig an und streckt sich schließlich in die Länge, wodurch das Stäbchen gebildet wird. Oft fängt auch die Teilung vor der Streckung an.

Der Bacillus tritt je nach dem Substrat, auf dem er kultiviert wird, als kürzeres oder längeres Stäbchen auf; oft werden vielstäbige Verbände und längere unsegmentierte Fäden gebildet.

$1^1/_2$ Stunden nach dem Aussäen der Sporen auf Agar findet man auf diesem etwa ebenso viele Stäbchen wie ungekeimte Sporen. Viele der Stäbchen zeigen schon eine Einschnürung, einige haben sich bereits geteilt. Die Zahl der 2-stäbigen Verbände ist aber klein. Man trifft hier Stäbchen von 2—5,6 μ Länge bei einer Breite von 0,7—1,3 μ. Die Einzelindividuen der 2-stäbigen Verbände sind gewöhnlich 2,4—3 μ lang und 0,7—1,3 μ breit. Dieselben Größenmaße zeigen die Zellen einer 12-stündigen Agarkultur (Taf. II, Fig. 7).

Eine bei 34° C gestandene, 24 Stunden alte Agarkultur setzt sich hauptsächlich aus viel-stäbigen, fadenförmigen Verbänden zusammen. Die Einzelindividuen sind hier von derselben Größe wie in den 2-stäbigen Verbänden. Während aber diese ein relativ homogenes Plasma aufweisen, fallen die Stäbchen der 24 Stunden alten, vielzelligen Verbände durch ein vakuolenreiches Plasma auf. Weiter besitzen diese im allgemeinen am einen Ende der Zelle eine mit Gentianaviolett sich kräftig färbende Chromatinkugel von recht beträchtlicher Größe (Taf. II, Fig. 9).

Eine 3 Tage bei 34° C gehaltene Agarkultur besteht hauptsächlich aus Sporangien. Das Sporangium hat ungefähr dieselbe Form wie das Stäbchen, aus dem es entstanden ist. Der mittlere Teil zeigt eine leichte Anschwellung. Die Spore liegt gewöhnlich zentral. Gleich vor dem Oeffnen nimmt das Sporangium eine mehr oder weniger ausgeprägte Clostridienform an, wenigstens ist das eine Ende desselben gewöhnlich deutlich zugespitzt (Taf. II, Fig. 11), jetzt platzt das eine Ende des Sporangiums, die Spore bleibt aber in der Hülle liegen und wächst, wie vorher erwähnt, noch innerhalb der alten Membran des Mutterstäbchens (der Sporangiumwand also) liegend, zu einem neuen Stäbchen aus.

Eine 1 Monat alte Gelatinestichkultur zeigt Einzelstäbchen, 2- und mehrstäbige Verbände. Die Einzelindividuen sind bis zu 14 μ lang. Sporangien und Sporen werden selten beobachtet.

Eine mit Sporen geimpfte Magermilch zeigte nach 24 Stunden Aufenthalt bei 34° C (in mit Wattepfropfen geschlossenem Kolben) hauptsächlich Einzelstäbchen von wechselnder Länge (bis zu 10 μ). Längere Verbände als 2-stäbige wurden nicht beobachtet. Ein Unterschied zwischen 24-stündigen und 48 Stunden alten Milchkulturen wurde nicht beobachtet (Taf. II, Fig. 8).

In einer $1^1/_2$ Monate alten Magermilchkultur (in mit Patentverschluß versehener Flasche) fanden sich sowohl Sporen als auch Stäbchen von verschiedener Länge.

Eine 10 Tage bei 34° C gestandene Kartoffelkultur bestand aus zwei zum größten Teil (im Vergleich mit auf anderen Substraten gewachsenen Individuen) „anormalen“ Stäbchen in vielzelligen Verbänden. Die Einzelzellen dieser Verbände sind bedeutend breiter und kürzer als diejenigen

Generated on 2019-09-21 16:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

anderer Kulturen. Oft sind sie fast kokkenförmig. Alle Stäbchen sind durch stark vakuoliges Plasma ausgezeichnet (Taf. II, Fig. 10).

Eigenbewegung: Die Einzelindividuen, wie auch die 2-stäbigen Verbände sind beweglich. Die längeren Verbände und die unsegmentierten Fäden unbeweglich. Die Bewegung ist eine relativ langsam vorwärtsschreitende. Gleichzeitig mit der Vorwärtsbewegung zeigt der Körper eine wackelnde Bewegung. Abwechselnd mit der vorwärtsschreitenden Bewegung sind Burzelbaum- und kreisende Bewegungen an einer Stelle. Der Bacillus ist peritrich begeißelt.

Färbbarkeit: sowohl mit Karbolfuchsin wie auch nach Gram.

Ansprüche an Temperatur und Zusammensetzung des Nährbodens.

Bestes Wachstum bei 34° C, das Wachstum bei Zimmertemperatur ist aber auch sehr kräftig. Auf allen geprüften Nährböden gedeiht der Bacillus sehr gut. Er wächst sowohl aërob wie anaërob.

Gelatineplatte.

a) Natürliche Größe: Nach 24 Stunden werden die Kolonieen des Bacillus als stecknadelkopfgroße Vertiefungen in der Gelatine bemerkbar. Im Zentrum der verflüssigten Gelatine liegt die weißlich-graue punktgroße Kolonie. Die 48 Stunden alten Kolonieen liegen in einer kreisrunden Schale, die bis zu 4 mm im Durchmesser hält. Die peptonisierte Gelatine ist trübe; im Zentrum der Schale ist die Bakterienmasse am dichtesten, wodurch dieses als ein weißes Pünktchen auffällt. Durch Vermehrung der Bakterien an der Oberfläche der verflüssigten Gelatine entsteht allmählich eine Haut, die am 3. Tage den größten Teil der Verflüssigungsschale bedeckt. Die Haut ist grau, aus helleren, mehr weißlichen und dunkleren, mehr grauen Zonen bestehend. Der Rand derselben ist zerrissen, mit kürzeren und längeren „Ausläufern" versehen, die in die außerhalb der Haut liegende, unbedeckte, verflüssigte Gelatine gehen. Die Verflüssigung geht immer weiter; wenn Platz vorhanden ist, hat die Kolonie nach etwa einer Woche einen Durchmesser von mehreren Centimetern. Dabei behält sie immer ihre kreisrunde Form und bleibt scharf von der festen Gelatine abgegrenzt.

b) 90-fache Vergrößerung: Die jungen, 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehaltenen Kolonieen sind von rundlicher oder unregelmäßiger Form und bräunlich-grauer Farbe, sie sehen wie Fadenbüschel aus, von denen Fäden in alle Richtungen hin auslaufen; wobei es charakteristisch ist, daß diese Fäden, wenn sie auch nicht einen dichten Kranz bilden, sehr lang nach allen Seiten ausstrahlen (Taf. Fig. 4).

Gelatinestich: Nach 24 Stunden beginnt um die Stichöffnung eine etwa 6 mm im Durchmesser fassende napfförmige Verflüssigung der Gelatine. Die verflüssigte Gelatine ist trübe und besitzt schon eine ganz dünne, graue Haut, die die ganze Oberfläche derselben bedeckt. Nach 48 Stunden reicht die Verflüssigungszone fast an die Wand des Kulturglases. Die Haut ist weißlich und fettglänzend und am Rande faserig. Von der Seite gesehen, hat der Verflüssigungstrichter die Form eines lang ausgezogenen Konus. Die peptonisierte Gelatine ist etwas trübe, außerdem schwimmen darin kleinere und größere Flocken von weißgrauer Bakterienmasse. Am 7. Tage ist die Gelatine zu einem großen Teil ve-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

flüssigt. Die Verflüssigungszone besitzt die Form eines langen, schmalen Trichters und enthält fast klare Flüssigkeit, in welcher Bakterienflocken herumschwimmen und die von einer weißen, metallisch glänzenden, schwach irisierenden Haut bedeckt ist. Die Haut zerfällt leicht beim Schütteln in kleinere und größere Brocken.

Mit zunehmendem Alter wird der Stich immer mehr cylindrisch, bis die Verflüssigung der ganzen Gelatinesäule etwa am 14. Tage erfolgt ist.

Agarplatte.

I. Bei Zimmertemperatur gehaltene Kultur.

a) Natürliche Größe: Die Kolonieen an der Oberfläche des Substrates sind 24 Stunden nach dem Impfen des Agars bis zu einigen Millimetern groß, von rundlicher, hie und da etwas unregelmäßiger Form. Die Farbe derselben ist bei durchfallendem Lichte grau; bei auffallendem Lichte auf schwarzem Untergrunde sind sie kaum sichtbar, fettglänzend und mit einem zerrissenen Rande, der schon kurze Ausläufer bessitzt, ersehen. Nach einigen Tagen sind die Oberflächenkolonieen zu centimetergroßen, rundlichen, flachen, grauweißen, fettglänzenden, feinwarzigen, m Rande fast durchsichtigen, gelappten Scheiben ausgewachsen. Je lter die Kolonieen werden, desto größer werden die Lappen des Randes, ie schließlich zu recht langen Ausläufern auswachsen. Die älteren olonieen zeigen eine deutliche konzentrische Schichtung. Die Konstenz ist fadenziehend (Taf. I, Fig. 1 gibt das Bild einer Riesenkolonie ieder).

b) 90-fache Vergrößerung: Eine 24 Stunden alte Kolonie erheint farblos, durchsichtig, rundlich — unregelmäßig mit zerrissenem nde, welcher fädige Ausläufer in alle Richtungen aussendet. Die ripherie der Kolonie ist gekörnt, das Innere derselben ohne Zeichung, da, wie schon bei dieser schwachen Vergrößerung wahrnehmbar , die Bacillen sich in steter Bewegung befinden. Aeltere Kolonieen igen eine innere Zeichnung, die an diejenige der Anthraxkolonieen . Flügge, Mikroorganismen. Bd. II. p. 220) erinnert (Taf. I, Fig. 2), so wellig verflochten ist. Die Randpartie derselben erinnert an Bact. pfii (Taf. I, Fig. 3).

II. Bei 34°—36° C gehaltene Kultur.

Die Kolonieen zeigen dieselben Eigenschaften in makroskopischer l mikroskopischer Hinsicht wie die bei Zimmertemperatur gewachsenen, geht das Wachstum bei dieser Temperatur, welche die optimale nperatur des Bacillus ist, viel rascher vor sich.

Agarstich.

Eine 24 Stunden alte Kultur ist einem umgekehrten Tannenbaum lich. Nach 48 Stunden haben sich die vom Stichkanal ausgehenden, zontalen Ausläufer in viele feine Verästelungen aufgeteilt, wodurch Stich das Aussehen eines Moospflänzchens bekommt. Das Oberflächenıstum ist einer alten Kolonie der Agarplatte ähnlich.

Agarstrich.

1) Bei Zimmertemperatur: 24 Stunden nach der Impfung Agars ist ein etwa 2 mm breiter, flacher, fast matter, grauweißer, durchfallenden Lichte gelblich grauer, gekörnter oder schwach

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

runzeliger Streifen entstanden, dessen Rand zerrissen erscheint. Der Belag ist schleimig-fadenziehend. Nach 48 Stunden ist der untere Teil des Striches quer zur Längsachse desselben gefaltet. Mit zunehmendem Alter wird der Streifen immer breiter und bedeckt schließlich nach wenigen Tagen die ganze Oberfläche des Substrates als ein wachsartiger, grauweißer Belag, dessen Oberfläche mehr und mehr runzelig wird und schließlich wie mit kleinen weißen Würmchen bestreut erscheint. Die Oberfläche eines alten Striches ist bedeutend glänzender als die eines jungen. Von der Unterseite des Belages wachsen vielfach verästelte Ausläufer in den Agar hinein.

2) Bei 34° C: Der bei dieser Temperatur entstehende Strich ist wohl in seinen Hauptzügen dem der Zimmertemperatur gleich, nur ist die Entwickelung desselben eine viel raschere. Schon nach 24 Stunden haben wir einen etwa 7 mm breiten, mehr weißlichen Belagstreifen vor uns, dessen Rand stark gelappt ist. Die ältere Kultur ist der bei Zimmertemperatur gehaltenen ähnlich; ein Unterschied besteht nur insofern, daß jene eine mehr glatte, nicht so runzelige Oberfläche besitzt.

Tupf-(Riesen-)Kulturen.

1. (1-proz. Dextrose-)Agarplatten.

Es wurden Kulturen teils bei Zimmertemperatur, teils bei 34° gehalten. Wie in dem Vorhergehenden erwähnt wurde, unterscheiden sich die bei verschiedenen Temperaturen entstandenen Belage des Bacillus auf Agar nicht wesentlich voneinander. Dasselbe ist auch hier der Fall.

Die Tupfkolonieen auf 1-proz. Dextrose-Agar sind mehr oder weniger rundlich, flach ausgebreitet, feinwarzig, fettglänzend, in jüngeren Stadien deutlich konzentrisch geschichtet und bei durchfallendem Lichte am Rande halb durchsichtig. Der Rand ist, wie es auf Agar immer der Fall ist, gelappt. Mit zunehmendem Alter werden die Lappen und Ausbuchtungen immer größer und länger, schließlich entsteht um die große dichte Kolonie ein ganzes System von feinen Verzweigungen und Verästelungen (Taf. I, Fig. 1).

2. Gelatineplatten.

48 Stunden nach dem Betupfen der Gelatine mit einer Bouillonkultur sind schon etwa 1 cm im Durchmesser fassende kreisrunde Verflüssigungsschalen entstanden. Die verflüssigte Gelatine ist trübe und von einem großen Häutchen zum größten Teil bedeckt. Die Haut ist am Rande zerrissen (Taf. I, Fig. 5). Eine 4 Tage alte Kolonie besitzt schon einen Durchmesser von 2,5—3 cm. Nach 10 Tagen ist die Verflüssigung so weit gegangen, daß die Zone derselben 4—5 cm im Durchmesser faßt. Die Zeichnung der Tupfkolonieen ist verschieden zu verschiedenen Zeiten. Eine 10 Tage alte Kolonie zeigt außerhalb des zentralen, von dem Häutchen bedeckten Teiles derselben mehrere miteinander abwechselnde Ringe von trüber und klarer, peptonisierter Gelatine. Einen großen Einfluß hat auch die Dicke der Gelatineschicht auf die Architektur der Tupfkolonie. So zeigt eine auf einer 3—4 mm dicken Gelatineschicht liegende Kolonie auch nach 10 Tagen keine Ringbildung, wie es der Fall bei einer auf einer etwa 2 mm dicken Gelatineplatte gewachsenen Kolonie ist, sondern die verflüssigte Gelatine ist vom Zentrum bis zur Peripherie von einer Haut bedeckt, die allerdings eine recht charakteristische und, wie mehrere Versuche lehrten, bei gleicher Versuch-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anordnung immer die gleiche Zeichnung besitzt. Die verflüssigte Gelatine bleibt immer von dem festen Teil des Substrats scharf abgegrenzt (Taf. I, Fig. 6).

Bouillon.

a) Bei Zimmertemperatur: Schon nach 24 Stunden stark getrübt mit einem fadenziehenden Bodensatz. Noch keine Hautbildung. Eine 5 Tage alte Kultur besitzt folgende Charaktere: trübe, kräftiger Bodensatz, eine dünne, graue Haut an der Oberfläche des Substrats. Nach 14 Tagen ist die Haut dicker, grauweiß, etwas irisierend und fest zusammenhängend. Reaktion der Kultur: schwach alkalisch.

b) Bei 34° C: = a), aber mit einem mehr sandigen Bodensatz.

1-proz. Dextrosebouillon: Kein Unterschied zwischen den bei Zimmertemperatur und bei 34° C gehaltenen Kulturen. Es treten dieselben Erscheinungen wie in der Bouillonkultur auf. Der Bodensatz ist aber immer sandig. Reaktion der Kulturen: recht kräftig sauer.

1-proz. Milchzuckerbouillon: = Dextrosebouillon. Reaktion: schwach sauer.

Milch.

a) Bei Zimmertemperatur in Reagenzröhrchen: Nach 5 Tagen schwach geronnen. Gleichzeitig macht sich der Anfang einer Peptonisierung bemerkbar. Reaktion in diesem Stadium amphoter.

Die Peptonisierung schreitet jetzt weiter, so daß nach 14 Tagen die Milch in eine graugelbe, nicht ganz klare Flüssigkeit verwandelt ist, deren Reaktion schwach sauer ist. Die peptonisierte Milch ist geruchlos.

b) Bei 34° C in Reagenzröhrchen: Nach 48 Stunden ist die Milch ganz schwach geronnen und gelblich geworden. Eine 6 Tage bei 34° C gestandene Kultur ist fast klar, durchsichtig, bräunlich-gelb. Reaktion: schwach sauer. Eine 10 Tage alte Kultur hat dasselbe Aussehen, aber riecht schwach nach Käse. Nach 15 Tagen tritt in der Flüssigkeit ein flockiger Niederschlag auf, der in fast goldgelbem, klarem, öläbnlichem Serum schwimmt. Sehr kräftiger Käsegeruch.

c) Bei Zimmertemperatur in Flasche mit Patentverschluß: Nach 24 Stunden schwach geronnen. Die Peptonisierung des Kaseins setzt gleich ein, so daß man nach 5 Tagen eine schwache Aufhellung der Milch beobachten kann. Die Reaktion der Kultur ist schwach sauer. 5 Tage später, also 10 Tage nach der Impfung der Milch, ist dieselbe graugelb, etwas trübe. Am 15. Tage tritt ein flockiger Niederschlag auf. Eine 1 Monat alte Kultur ist von braungelber Farbe, schwach trübe, ohne Geruch. Reaktion ganz schwach sauer.

d) Bei 34° C in Flasche mit Patentverschluß: Nach 24 Stunden ist die Milch geronnen und zwar etwas fester als bei c). Eine größere Menge Serum schwimmt auf dem Gerinnsel. Nach 48 Stunden fängt die Peptonisierung an. Die Milch ist gelbgrau. Reaktion: sauer. Schwacher Geruch nach Stall. Am 6. Tage ist die Flüssigkeit fast klar, braungelb und riecht schwach nach Käse. Am 15. Tage tritt auch hier ein flockiger Niederschlag auf. Eine 20 Tage bei 34° C gehaltene Kultur besitzt einen reichlichen flockigen Niederschlag, der in goldgelbem Serum schwimmt. Eine 1 Monat alte Kultur hat eine ziemlich kräftige, sauere Reaktion und besitzt einen sehr starken Geruch nach Käse. In dem goldgelben, ölähnlichen Serum liegt ein graugelber, das helle Volumen der Flüssigkeit einnehmender Niederschlag.

Kartoffel: Ein sich allmählich über die ganze Oberfläche der Kartoffel ausbreitender, kräftiger, erhabener, zuerst rahmfarbiger, später

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

grauweißer, schmieriger Belag, der anfangs matt, später fettglänzend wird. Der Unterschied zwischen bei Zimmertemperatur und bei 34° C gewachsener Kultur ist gering.

Chemische Leistungen: Der Bacillus bildet Indol, reduziert Nitrat zu Nitrit, entfärbt Methylenblaubouillon und bildet reichliche Mengen H_2S und NH_3 in Bouillon.

Der andere, vielleicht wichtigere der beiden für das Mazun speziell charakteristischen Organismen ist eine bereits von Düggeli gefundene langstäbchenförmige Milchsäurebakterie, welche wir im Hinblick auf ihre Unbeweglichkeit und auf den Mangel von Begeißelung als Bacterium Mazun bezeichnet haben. Da die Beschreibung, welche Düggeli gegeben hat, nach mancher Richtung unvollständig ist, so möge eine von Dr. Huss vorgenommene, ausführlichere hier folgen.

Bacterium Mazun, Milchsäurebacillus des Mazun.

Mikroskopisches Aussehen: Die Bakterie ist ein Langstäbchen, das je nach der Zusammensetzung des Nährbodens die eine oder die andere mehr oder weniger ins Auge fallende Abweichung von dieser „Normal“-Form zeigt. Nimmt man die Milch als normalen Standort des Bakteriums an, so sind die individuellen Maße desselben die folgenden:

Länge 2,7—21 μ
Breite 1,0—1,10 μ.

Die in einer Milchkultur in Großzahl vorkommenden Individien sind 1—9 μ lang. Die Länge des Bakteriums wechselt also sehr, ganz gleich, ob es als Einzelzelle oder als Glied eines 2—3-zelligen Verbandes auftritt (Taf. III, Fig. 3).

Eigenbewegung: Wurde in keinem Falle beobachtet. Versuche, durch mehrmaliges Umimpfen (alle 24 Stunden) bewegliche Zellen anzuzüchten, fielen negativ aus.

Färbbarkeit: Das Bakterium nimmt mit Leichtigkeit den Farbstoff aus Karbolfuchsin auf und färbt sich auch nach der Gramschen Methode.

Ansprüche an Temperatur und Zusammensetzung des Nährbodens: Im Gegensatz zu den Angaben Düggelis konnte das Bakterium auch bei 20° C gezüchtet werden. Die Vermehrung geht zwar bei dieser Temperatur nicht allzu rasch vor sich, ist immerhin doch recht beträchtlich. Wie aus den Kulturversuchen in Magermilch hervorgeht, gerinnt mit Milchkultur (10 Proz.!) geimpfte Milch bei 20° C innerhalb 6–9 Stunden.

Bezüglich des Verhaltens der Bakterie zu den verschiedenen Nährböden wird auf die Versuche, die im folgenden beschrieben werden, hingewiesen.

Sauerstoffbedürfnis: Das Bakterium gedeiht sowohl bei Luftabschluß wie auch bei Luftzutritt gut. Die Morphologie eines Individuums, das sich den Sauerstoff durch intramolekulare Atmung verschafft hat, ist aber recht verschieden von der derjenigen Zellen, die den freien Sauerstoff als Energiequelle benutzt haben. Hinsichtlich dieses Punktes siehe die Kulturversuche.

Gelatineplatte, Gelatinestich: } Kein Wachstum.
Molkengelatine, Pepton-Molkengelatine: }
Milchzucker-Gelatinestich: } Kein Wachstum.
Dextrose-Gelatinestich: }

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Agarplatte, Agarstich, Agarstrich bei 20° und 37° C: Kein Wachstum.

Milchzuckeragar bei 20° und 37° C: Auf Platten, im Stich auf Strich oder in hoher Schicht kein Wachstum.

Bouillon, Milchzucker- und Dextrose-Bouillon bei 20° und 37° C: Kein Wachstum.

Kartoffel bei 20° und 37° C: Kein Wachstum.

Molkenagarplatte bei 37° C: 1. Natürliche Größe.

a) Oberflächenkolonieen: Die 24 Stunden alten Kolonieen sind als kleine weiße Pünktchen zu beobachten. Nach einigen Tagen besitzen sie eine Größe von etwa 1 mm im Durchmesser. Sie sind flach ausgebreitet, fettglänzend, rundlich oder von unregelmäßiger Form. Die Konsistenz derselben ist wie diejenige weicher Butter.

b) Tiefenkolonieen: Weißliche Pünktchen, die mit zunehmendem Alter sich mehr oder weniger flach ausbreiten. Der Nährboden trübt sich oft in der Umgebung der Kolonieen.

2. 90-fache Vergrößerung:

a) Oberflächenkolonieen: Gelbliche, rundliche oder ganz unregelmäßige, mehr oder weniger gelappte Kolonieen, deren innere Zeichnung grobkörnig und gestrichelt ist. Der Rand ist rauh, bezw. mit haarfeinen, oft lockenförmigen Ausläufern versehen, die später miteinander ein wirres Geflecht bilden (Taf. III, Fig. 1).

b) Tiefenkolonieen: Farblose, gelbliche Kolonieen mit einem bräunlich-roten, wie Düggeli sagt „schwach rostroten“ Zentrum. Dieselben sind flockig und ähneln einem mit sehr vielen Verzweigungen versehenen Wurzelsystem (Taf. III, Fig. 2).

Molkenagarstich bei 20 und 37° C: Der Stich, welcher nach einigen Tagen das Aussehen eines auf die Spitze gestellten Tannenbaumes besitzt, ist sehr kräftig entwickelt und ruft allmählich durch die Säurebildung eine Trübung des Substrates hervor. Die volle Entwickelung dieser charakteristischen Form des Stiches geht natürlich langsamer vor sich bei 20° als bei 37° C, die Stiche sind einander aber nach etwa 1 Monat vollständig gleich.

In morphologischer Hinsicht ist kein Unterschied zwischen den bei 20° und den bei 37° C gezüchteten Individuen zu bemerken. Regelmäßige Formen, also gerade Längsstäbchen, wie man sie in der Milchkultur antrifft, beobachtet man aber hier äußerst selten. Die Zellen sind von verschiedener Länge und verschiedener Breite und besitzen sehr oft an den Enden oder an irgend einer anderen Stelle des Körpers blasenförmige Anschwellungen. Sie gehören also zu denjenigen Formen, die man „Involutionsformen“ zu nennen liebt. Hier und da trifft man auch Zellen an, die an dem einen Ende dichotomisch verzweigt sind; die verzweigten Individuen sind aber in diesem Substrat sehr selten (vergl. nachfolgend Molkenagarstrich 37° C und Pepton-Molken-Agarschichtkulturen).

Die Breite der Zellen wechselt von 0,6—1,75 μ. Fäden von beträchtlicher Länge sind nicht selten. So wurde z. B. ein unsegmentierter Faden von etwa 210 μ Länge bei einer Breite von 0,6 μ beobachtet. Die Maße beziehen sich auf gefärbtes Objekt (Karbolfuchsin).

Molkenagarschüttelkultur bei 20° und 37° C: In der bei 20° C gehaltenen Kultur beobachtet man nach 24 Stunden kein Wachstum, dagegen zeigt sich das bei 37° gestandene Molkenagar nach dieser Zeit

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von weißlichen Pünktchen reichlich durchsetzt. Erst nach 48 Stunden macht man diese Beobachtung bei der erstgenannten Kultur. Nach einigen Tagen sind die Pünktchen zu gelblich-weißen Kügelchen von verschiedenem Diameter angewachsen, welche an der Peripherie wollig oder mit kleinen Auswüchsen versehen sind. Jedes Kügelchen ist von einem trüben Hof umgeben.

Wie in den Stichkulturen von Molkenagar finden wir hier Zellen von der verschiedensten Länge und Breite, wie auch Individuen, die keulenähnlich sind oder Anschwellungen an verschiedenen Stellen des Körpers aufweisen. Verzweigte Fäden wurden hier und da beobachtet. Die breitesten Zellen besitzen meistens ein stark vakuoliges und körniges Plasma. In den mehrzelligen Verbänden werden oft die verschiedensten Breitemaße der Einzelglieder beobachtet. Kein bemerkenswerter Unterschied zwischen den Zellen der bei 20° C und denjenigen der bei 37° C gehaltenen Kulturen (Taf. III, Fig. 5).

Molkenagarstrich bei 20° und 37° C: Der Strich entwickelt sich bei beiden Temperaturen in derselben Weise. Er ist meistens recht dünn, oft schleierartig, grauweiß mit Ausbuchtungen und Lappen am Rande. Die Struktur ist schollig, die Konsistenz wie diejenige weichen Fettes.

Außer „normalen" Stäbchen und mehrstäbigen Verbänden beobachtet man in einem Ausstrichpräparat dieser Kulturen viele Individuen und Glieder eines Verbandes, die echte Verzweigungen aufweisen. In den meisten Fällen ist diese Verzweigung rein dichotomisch. Wie die Taf. III, Fig. 4 zeigt, kommen auch mehrere seitliche Verzweigungen an einem Individuum vor. Die Breite und Länge der Glieder eines Verbandes ist sehr verschieden, wie auch aus der Figur zu ersehen ist. Das Plasma der Individuen dieser Kulturen ist gewöhnlich reichlich verhanden und homogen. Später, in älteren Kulturen, wo die Säurebildung schädigend auf die Zellen gewirkt hat, erscheint das Plasma vakuolig, heterogen; sie lassen sich dann auch schlecht färben.

Molke bei 20° und 37° C: Die bei 20° C gehaltene Kultur zeigt nach 24 Stunden keine Trübung; die bei 37° gestandene Kultur ist dagegen stark trübe und besitzt außerdem einen recht kräftigen, wolkig-sandigen Bodensatz von gelblich-weißer Farbe. Nach 2 Tagen ist auch die erste Kultur stark getrübt. Die Trübung der Flüssigkeit und der Bodensatz in derselben wird mit der Zeit immer kräftiger. Sobald der Gehalt der Kultur an Säure das Maximum erreicht hat, hört das Wachstum auf, das Bakterium stirbt ab.

Sowohl in den bei 20° wie auch in den bei 37° gewachsenen Kulturen werden nach 3 Tagen nur „normale" Stäbchen beobachtet, d. h. Zellen von demselben Habitus wie in Milchkulturen. Die Zellen 3 Wochen alter Kulturen sind dagegen von sehr wechselndem Aussehen. Mit Karbolfuchsin gefärbtes Objekt zeigt die verschiedensten Formen, die eine Form abenteuerlicher als die andere. Die Untersuchung des lebenden Objektes im hängenden Tropfen bestätigt die Befunde im gefärbten Präparate. Die meisten Individuen sind an einer oder mehreren Stellen des Körpers blasenförmig angeschwollen oder mit Verzweigungen verschiedener Art versehen. Das eine Ende einer Zelle ist keulenförmig erweitert, das gegenüberliegende läuft in einen feinen Faden aus. Oft sind beide Pole eines Individuums keulenförmig aufgetrieben. Es sind also Individuen von dem Aussehen, wie sie die Taf. III, Fig. 5 und 6 darstellen, nur daß diejenigen Zellen, welche keulenförmig aufgetriebene

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pole aufweisen, oft bedeutend länger und schmäler sind als in der Fig. 5.

Pepton-Molkenagarstich bei 20° und 37° C: Das Wachstum erfolgt hier ganz wie im Molkenagarstich. Wie bei diesem ist hier ein ganz schwaches Oberflächenwachstum zu beobachten. Der Belag ist dünn, schleierartig.

Man begegnet hier denselben Formen wie im Molkenagarstich, kurzen und langen Individuen, breiten und schmalen Zellen. Im allgemeinen scheinen sie ein etwas vakuoligeres Plasma als die Individuen der Molkenagarstichkulturen zu besitzen.

Pepton-Molkenagarschüttelkultur bei 20° und 37° C: = Molkenagarschüttelkulturen. Was die Morphologie der Zellen dieser Kultur angeht, bietet sie sehr viel Abwechselung. Man beobachtet die verschiedensten „normalen" und involvierten Formen. Lange, schmale, fast „haarfeine" (etwa 0,20—0,25 μ breite) Fäden wechseln mit kurzen, dicken (etwa 1,75 μ breiten) Zellen ab. Verzweigte Individuen sind zwar nicht besonders reichlich vorhanden, aber doch in bedeutend größerer Zahl als in einer Molkenagarschüttelkultur. Die Taf. III, Fig. 6 zeigt einige nur mehr selten beobachtete, stark verzweigte Individuen, deren Plasma außerordentlich vakuolig ist.

Pepton-Molkenagarstrich bei 20° und 37° C: = Molkenagarstrich.

Peptonmolke bei 20° und 37° C: = Molkenkulturen. In morphologischer Beziehung ist kein Unterschied zwischen Molken- und Peptonmolkenkulturen, nur tritt bei diesen früher eine Körnelung im Plasma ein. Verzweigte Individuen werden in Pepton-Molkenkulturen öfter beobachtet als in Molkenkulturen.

Milch bei 20° und 37° C: Es wurde Magermilch in Reagenzröhrchen (10 ccm) mit einer Molkenagarkultur geimpft.

a) Kultur bei 20° C: Nach 2 Tagen ist die Milch unverändert, nach 3 Tagen zu einem recht festen Kuchen geronnen, fast ohne Serumausscheidung. Der Geschmack der Kultur ganz schwach säuerlich.

b) Kultur bei 37° C: Nach 2 Tagen ist die Milch zu einem weichen Kuchen koaguliert, der nach 3 Tagen ganz fest geworden ist. Wie bei a) fast keine Serumausscheidung. Der Geschmack der Kultur intensiv sauer.

Mikroskopische Untersuchung der Kultur: In morphologischer Hinsicht ist kein Unterschied zwischen den Zellen der a- und b-Kultur. Beide Kulturen enthalten nur unverzweigte Zellen, die bald einzeln, bald in 2-, selten in 3- oder 4-zelligen Verbänden auftreten. Hier und da kann man ein Stäbchen beobachten, das an einem Ende knochenartig erweitert ist, zu einer Verzweigung wie bei den Individuen einer Molkenagarkultur kommt es aber niemals. Die Enden der Stäbchen sind abgerundet. Der Protoplast derselben erscheint gewöhnlich ganz homogen (Taf. III, Fig. 3).

Bestimmung des Säuregrades der mit Bact. Mazun gesäuerten Milch.

5 Kolben mit 500 ccm sterilisierter Milch wurden mit je 1 ccm einer 24 Stunden lang bei 37° C gehaltenen Milchkultur geimpft und bei verschiedenen Temperaturen im Thermostaten gehalten.

Nach 18 Stunden sind alle Proben geronnen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Titration ergab folgende Werte:

25 ccm verbrauchten an $\frac{N}{4}$ NaOH-Lauge

Kolben	bei	20° C = 2,1	„
„	„	25° C = 2,1	„
„	„	30° C = 4,8	„
„	„	35° C = 10,0	„
„	„	40° C = 17,4	„

Wiederholung des Versuches in genau derselben Weise bei höherer Temperatur. Alle Proben geronnen (die Zeitdauer bis zur Gerinnung ist nicht beobachtet, weil nachts).

40° C = 18,1	NaOH-Lauge
47° C = 14,8	„
55° C = 6,0	„

Die Temperatur von 40° C stellt also das Wachstumsoptimum dar. Um zu sehen, ob die Milch bei 55° C noch lebende Bakterien enthält, wurde Milch mit den Kulturen von 47 und 55° C geimpft:

Nach 24 Stunden bei 37° C

Milch aus der Milchkultur von 47° C geimpft, fast fest geronnen
„ „ „ „ „ 55° C „ weich geronnen.

Es waren also die Bakterien, trotzdem sie 18 Stunden bei 55° C gehalten und teilweise der Säure ausgesetzt waren, nicht abgetötet, aber doch etwas geschwächt.

Prüfung der Lebensdauer des Bacterium Mazun in Molke und Peptonmolke (1 Proz. Pepton) bei 20° bezw. 37° C. Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt:

Mit einer Molkenagarkultur geimpfte Molke, bezw. Peptonmolke wurde in Reagenzgläschen bei 20° bezw. bei 37° C gehalten. Die Kulturen sind im folgenden bezeichnet mit:

1) Molkenkultur	bei	20° C	gehalten
2) Pepton-Molkenkultur	„	20° C	„
3) Molkenkultur	„	37° C	„
4) Pepton-Molkenkultur	„	37° C	„

Alle 24 Stunden wurden 4 Magermilchröhrchen (à 10 ccm Milch) mit einer vollen Oese der Kulturen geimpft und bei 37° C gehalten. Die eintretende Gerinnung wurde als ein Zeichen der Lebenskraft der Bakterie betrachtet.

Je nachdem die in die Molke eingeimpfte Menge der Bakterie klein oder groß war, nahm die Fähigkeit, Milch zum Gerinnen zu bringen, nach längerer oder kürzerer Zeit ab.

Als allgemeines Resultat geht aus den Versuchen hervor, daß die bei 37° gezüchteten Zellen am frühesten ihr Leben einbüßen. Die mit Pepton ernährten Zellen degenerieren schneller als die mit reiner Molke gezüchteten.

So waren in einem Versuch die Bakterien in:

4)	nach	8 Tagen	gestorben
3)	„	5 Wochen	„
2)	„ etwa	8 „	„
1)	„ „	11 „	„

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was die im Mazun vorhandenen Hefen anlangt, so hat, wie schon erwähnt, Dr. Gruber in der 1898 untersuchten Probe 3 verschiedene Arten isoliert. Dieselben waren aber aus Mangel an Zeit nicht weiter auf ihre morphologischen Eigenschaften geprüft worden und waren inzwischen leider auch ausgestorben. Die in den beiden letzten Mazunproben aufgefundene Hefe erwies sich auf Grund der Form der Zellen und der Sporenbildung, sowie ihres sonstigen Verhaltens als Saccharomyces Pastorianus. In sterilisierter Magermilch veranlaßte sie eine Vergärung des Milchzuckers, wie sich an der Bildung von Gas erkennen ließ und erzeugte sie ein angenehmes fruchtesterartiges Aroma. Dieses letztere blieb auch dann bestehen, wenn die Hefe mit gewöhnlichen Milchsäurebakterien und mit den übrigen in den Mazungproben vorgefundenen Organismen zusammen geimpft wurde. Geschah das letztere in größerem Maßstabe und wurde die Milch im Brutschrank gehalten, so erhielt man überhaupt ein sehr angenehm säuerlich schmeckendes Getränk, das man aber vor der Gerinnung der Milch genießen mußte, denn nach eingetretener Gerinnung war der Geschmack so stark sauer, daß sich selbst kleine Mengen nicht genießen ließen.

Dieser stark saure Geschmack wird, wie wir oben schon bemerkt haben, von der langstäbchenartigen Milchsäurebakterie, dem Bacterium Mazun, hervorgerufen. Da sie auch von Düggeli gefunden wurde und — wie aus der Schilderung des Herrn Diradourian vom Gebrauche des Mazun in Armenien namentlich aus der Warnung, das Mazun nicht so sauer werden zu lassen, hervorgeht — sich auch im natürlichen, am Ursprungsorte fortgepflanzten Mazun stets vorzufinden scheint, so darf diese scharf säuernde Milchsäurebakterie als ein wesentlicher, speziell dem Mazun eigentümlicher und für dieses charakteristischer Bestandteil angesehen werden.

Als ein weiterer, nicht minder charakteristischer stetiger Bestandteil des Mazun muß dann aber auch der Bacillus Mazun angesehen werden. Dieser, die Milch peptonisierende und ihr namentlich beim Aelterwerden einen käseartigen Geschmack verleihende Organismus ist zwar, wie schon erwähnt, eigentümlicherweise von früheren Bakteriologen nicht, von uns aber in allen dreien von uns untersuchten Mazunproben gefunden worden und er scheint, wenn auch weniger bei dem frisch genossenen Mazun, so doch bei den Than und Tschorathan, also bei dem aus Mazun gewonnenen Quark und Käse eine geschmackbildende Rolle zu spielen. Infolge der von ihm verursachten Peptonisierung der Milch dürfte er auch schon dem Mazun einen, wenn auch leichten pikanten Geschmack verleihen, am stärksten wird aber sein Einfluß erst später auftreten, wenn die Quarkmasse anfängt zu reifen; der dabei auftretende Käsegeschmack und Geruch entsteht durch den Bacillus Mazun.

Die wesentlichen Bestandteile des Mazun und seiner Produkte sind also nicht nur Milchzucker vergärende Hefen, stäbchenförmige Milchsäurebakterien und die gewöhnliche Milchsäurebakterie (Bact. Güntheri oder Streptococcus lacticus), sondern es ist diesen noch der Bacillus Mazun zuzurechnen und wahrscheinlich ist auch Oidium lactis nicht ganz ohne merklichen Einfluß. (Die in den beiden neuen Mazunproben vorgefundene Art oder Abart von Oidium unterschied sich in nichts vom gewöhnlichen Oidium lactis). Die wichtigsten oder wenigstens die außergewöhlichen Organismen im Mazun

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind aber das Bact. Mazun, also die stäbchenförmige Milchsäurebakterie, der Bac. Mazun, der die Reifung, d. h. den Reifegeschmack bewirkende Bestandteil.

Säuerungsversuche mit Mazun.

Es ist schon mehrfach der Vorschlag gemacht worden, die vermittelst „Kefirpilzen" oder „Mazunhefe" gesäuerte Milch statt unserer Säurewecker oder auch unserer „Reinkulturen" als Säurewecker für die Bereitung einer aromatischen Butter zu verwenden. Die gewöhnlichen Säurewecker, welche durch freiwillige Säuerung von Magermilch gewonnen werden, bieten nicht die Sicherheit der Reinheit, welche für die Bereitung einer stets gleichmäßigen fehlerlosen Butter notwendig ist und den Reinkulturen fehlen zumeist diejenigen Organismen, welche das Aroma wecken sollen, sie geben daher meist wohl eine reinschmeckende fehlerlose aber keine aromatische Butter. Da sowohl Kefir wie Mazun Milchsäurebakterien und zugleich Aroma gebende Organismen enthalten, so liegt es nahe, diese beiden Milchgetränke für die Bereitung von Säureweckern zwecks Butterbereitung zu empfehlen, sie an Stelle der „Reinkulturen" vorzuschlagen. In der Tat finden nach den Mitteilungen, welche durch Armenier zu uns gebracht worden sind, Mazun, vielleicht auch Kefir, in Armenien bei der Butterbereitung Anwendung. Die aus Mazun gewonnene Butter soll nach Kalanthar wegen ihres angenehmeren Geschmackes und wegen ihres Aromas von Armeniern und Kurden der Süßrahmbutter vorgezogen werden.

Um uns ein Urteil über die Verwendbarkeit von Mazun als Säurewecker für die Bereitung von Sauerrahmbutter bilden zu können, stellten wir einige Versuche in der Meierei der Versuchsstation an. Wir benutzten dabei eine Mischung der aus dem Mazun gezüchteten Organismen; die Mazunproben selbst dafür in Gebrauch zu nehmen, schien nicht geraten, da sie schon etwas angeschimmelt waren. Wir bereiteten uns in folgender Weise einen Mazun-Säurewecker. Etwa 1 l sterilisierte Milch wurde mit den Mazunpilzen, also mit der stäbchenförmigen Milchsäurebakterie (Bact. Mazun), dem Bacillus Mazun, dem Saccharomyces Pastorianus und dem in Mazun vorgefundenen Oidium lactis, so ziemlich zu gleichen Teilen geimpft und bei 37° C bebrütet. Nach etwa 12 Stunden war Gerinnung eingetreten, wir ließen die Kultur aber noch weitere 8 Stunden stehen, um den beiden erst bei Brutwärme besser wachsenden charakteristischsten Bestandteilen des Mazun Gelegenheit zu geben, sich möglichst zu vermehren und die Ueberhand zu gewinnen. Die Ausscheidung, das Gerinnsel, war trotz der fortgesetzten Einwirkung der Wärme von weicher Beschaffenheit geblieben und ließ sich gut zerteilen; auf der Oberfläche befanden sich einige größere Inseln von Oidium-Wucherungen, die Milch hatte scharf sauren und aromatischen Geschmack. Nach kräftigem Durchschütteln der Kultur wurde sie auf eine zweite Probe sterilisierter Magermilch übertragen und diese Impfung bei 25° C hingestellt. Diese Temperatur wurde gewählt, weil sie namentlich bei der Säuerung des Rahmes den im Molkereigewerbe üblichen Wärmegraden näher steht, als die von 35° C; mit diesem letzteren Wärmegrad kann zwar ein Säurewecker angestellt werden, nicht aber Rahm. Die so behandelte zweite Impfung war am nächsten Morgen, also nach spätestens 20 Stunden ebenfalls geronnen und hatte einen angenehm sauren und aromatischen Geschmack. Diese Kultur wurde zur Bereitung eines ersten Säureweckers in der Meierei verwendet. Die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hierzu benötigte Magermilch wurde vor der Impfung in einem mit direktem Dampf erhitzten Wasserbad 1 Stunde lang auf 98—99 ° C erhitzt und dann auf 25 ° C wieder abgekühlt. Des Abends, nach etwa 7-stündigem Stehen war der so bereitete Säurewecker noch fast gar nicht säuerlich, wurde es aber und gerann nach weiteren 4 Stunden, nachdem die allmählich gesunkene Temperatur (der Versuch war im Februar angestellt worden) nochmals auf 25 ° C erhöht worden war. Der Geschmack war rein und mild sauer.

Mit diesem Säurewecker wurde der pasteurisierte Rahm in der Menge von 7 Proz. versetzt und bei 18 ° C aufgestellt. Nach 11-stündigem Stehen bei der gleichen Wärme war jedoch durch Schmecken ein Fortschritt der Säuerung noch nicht wahrzunehmen und auch am darauffolgenden Morgen, also nach etwa 20 Stunden, war die Säuerung noch zu schwach. Als der Rahm auf 20 ° C nachgewärmt wurde, nahm die Säuerung zwar etwas, aber zu wenig zu, so daß die Butterreife erst eintrat, als man den Rahm auf 25 ° C erwärmt und weitere 2 Stunden stehen gelassen hatte. Der Geschmack des butterreifen Rahmes war rein aber schwach sauer. Die daraus gewonnene Butter war am 2. Tage nach der Bereitung ebenfalls reinschmeckend, aber nichtssagend, ohne Aroma; nach 14-tägiger Aufbewahrung hatte sie noch die gleiche Reinheit in der Säure, war aber in den oberen Partieen etwas muffig geworden, weil sich dort ein Schimmelpilz angesiedelt hatte.

Für einen zweiten Versuch wurde der Säurewecker durch Umimpfen aus dem ersten Säurewecker gewonnen. Weil dieser aber zu schwach gesäuert hatte und namentlich die scharfe Säure des Bacterium Mazun nicht in die Erscheinung getreten war, wurde der Säurewecker jetzt bei 35 ° C angestellt und außerdem wurden ihm noch je eine Milchkultur vom Bacterium Mazun wie auch vom Bacillus Mazun hinzugefügt. Der Säurewecker war nun schon nach 5 Stunden geronnen, scharf sauer aber wenig aromatisch. Er wurde, wie man das bei einem etwas zu früh sauer gewordenen Säurewecker allgemein zu tun pflegt, zur Aufbewahrung bis zum Gebrauch für die Impfung in kaltes Wasser (von etwa 9 ° C) gestellt.

Es sollte nun diesmal nicht bloß eine Geschmacksprüfung vorgenommen werden, sondern auch durch eine Art mikroskopischer Betriebskontrolle das Verhalten der biologischen Bestandteile des Mazun verfolgt werden. Zu diesem Zwecke wurde am nächsten Morgen eine Probe dieses Säureweckers mikroskopisch auf die Anwesenheit der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien geprüft; das mit Wasser verdünnte und gefärbte Präparat enthielt aber in keinem Gesichtsfelde Stäbchenformen, während sie im Mazun in zahlreichster Menge vorhanden sind; die Milchsäurestäbchen waren also abgestorben. Die Abkühlung des Säureweckers, die notwendig war, um eine Uebersäuerung und namentlich eine Abscheidung des Kaseins zu verhindern, mußte nicht nur ihre Vermehrung verhindert, sondern auch ihre Lebenskraft so sehr geschwächt haben, daß sie von anderen Bakterien speziell von den gewöhnlichen Milchsäurebakterien überwuchert wurden und abstarben. Dagegen waren die früher bei der Herstellung des ersten Säureweckers mitbenutzten Hefen noch in genügender Menge vorhanden.

Die Anwesenheit des Bacillus Mazun war wegen der kurzen Form dieser Mikrobe im mikroskopischen Bilde nicht festzustellen, wir dedienten uns daher zum Nachweis der vermutlich noch vorhandenen Individuen eines Anreicherungsverfahrens, darin bestehend, daß wir eine Probe des Säure-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weckers in sterilisierte Milch impften, diese bei 37° C bebrüteten und Teile der noch nicht geronnenen Milch noch 2mal hintereinander auf neue sterilisierte, 37° C warme Milch überimpften. Es gelang aber auch auf diese Weise nicht, den Bacillus Mazun zu finden, man muß also annehmen, daß er ebenso wie das Bacterium Mazun im abgekühlten Säurewecker zu Grunde gegangen war.

Bei der Verwendung des Säureweckers zur Säuerung des Rahmes war wie im ersten Versuch verfahren worden, nur war dieses Mal eine etwas erhöhte Reifungstemperatur, nämlich 20° C, eingehalten worden. Infolgedessen war der Rahm auch schon nach 7 Stunden schwach geronnen und angenehm säuerlich; über Nacht blieb er kalt stehen. Der Butterungsprozeß verlief normal und die erzielte Butter war von reinem und etwas aromatischerem Geschmack als die vom vorhergehenden Versuch, doch konnte auch hier ein auffälligeres, etwa an den Geschmack und Geruch des Mazun erinnerndes Aroma nicht konstatiert werden. Auch bei weiterer Aufbewahrung trat ein solches Aroma nicht hervor, die Butter wurde vielmehr etwas früher altschmeckend als die erste Probe.

Aus diesen beiden Butterungsversuchen und namentlich aus der mikroskopischen Kontrolle des zweiten Säureweckers, dem die charakteristischen Mazunbakterien noch einmal, wenn auch in geringer Menge zugefügt worden waren, darf wohl geschlossen werden, daß sich die genannten biologischen Bestandteile des Mazun für die Verwendung zu Säureweckern nicht eignen. Wenn sie auch, namentlich die langstäbchenförmige Milchsäurebakterie, noch bei der gewöhnlichen Zimmertemperatur von etwa 20° C wachsen und auch die Milch noch verändern, so ist ihre Wirkung bei den im Molkereigewerbe üblichen Wärmegraden, die zumeist ja unter 20° C liegen, doch schon zu schwach, als daß sie sich bemerkbar machen könnte und die Mikroorganismen selbst werden von anderen so stark überwuchert, daß sie verschwinden und selbst bei der Fortpflanzung in höherer Temperatur nicht mehr aufkommen, daß sie also absterben.

Es wäre dann einzig und allein die Hefe, welche noch auf die Güte der Butter einwirken könnte. Solche Milchzucker vergärende und Fruchtester bildende Hefen gibt es aber sehr viele und sie sind ziemlich allgemein verbreitet, so daß sie sich ziemlich in jeder Milch vorfinden. Es ist wahrscheinlich, daß sie zu dem Aroma der Butter, soweit dieses dem Säuerungsvorgang entspringt, beitragen, sie werden aber wohl nur dann für die Qualität der Butter von Nutzen sein, wenn sie in geringer Menge auftreten, denn sie verbinden mit der Eigenschaft, Fruchtaroma zu erzeugen, zumeist auch die, das Butterfett ranzig zu machen, namentlich dann, wenn andere in gleicher Weise tätige Lebewesen, speziell Eumyceten vorhanden sind und beide sich in ihrer Wirkung unterstützen. Diese milchzuckervergärenden Hefen sind also, wie viele andere bisher gefundene Aromawecker, in demselben Maße für die Qualität der Butter gefährlich, wie sie wegen des Fruchtaromas erwünscht erscheinen. Außerdem scheint der Saccharomyces Pastorianus, der im Mazun vorkommt, ebenfalls an eine höhere Temperatur gewöhnt zu sein, denn seine Wirkung auf Milch trat in den in der Meierei hergestellten Säureweckern sehr wenig zu Tage.

Keiner der drei wichtigen Lebewesen des Mazun hat sich also bei der Bereitung und Fortpflanzung des Säureweckers für die Ansäuerung von Rahm zur Bereitung von

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

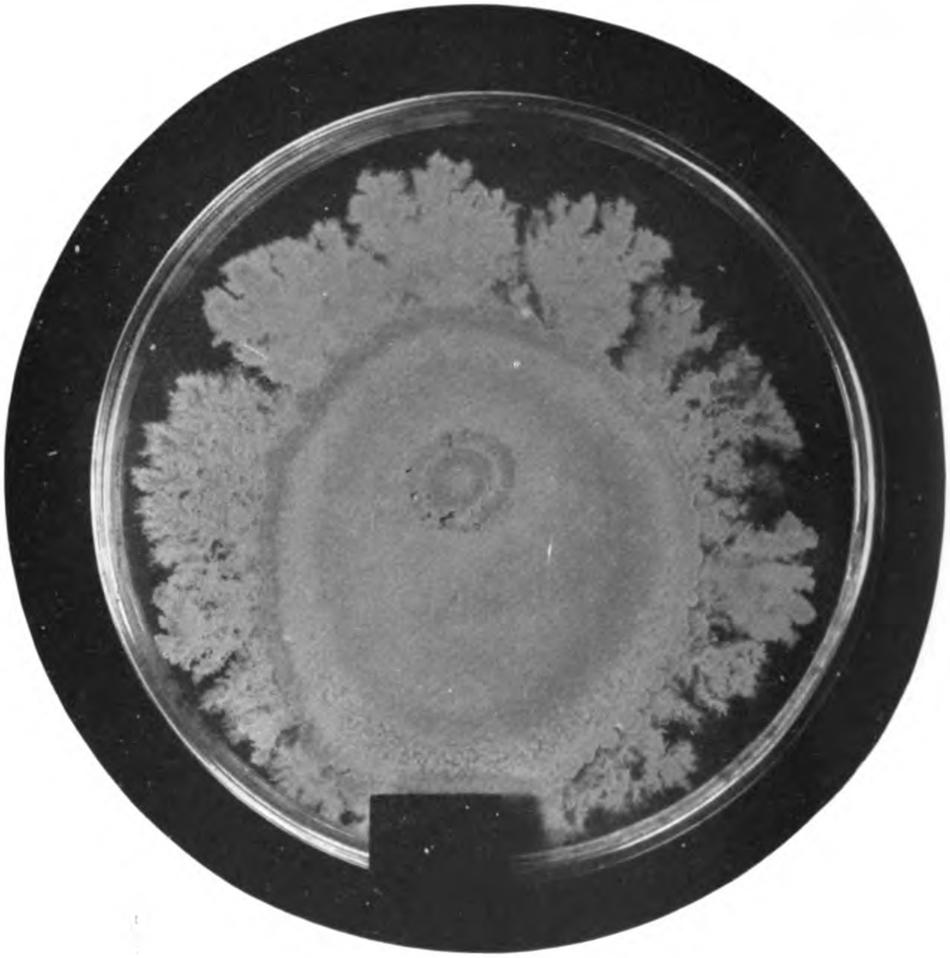


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 6.

Verlag von G

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

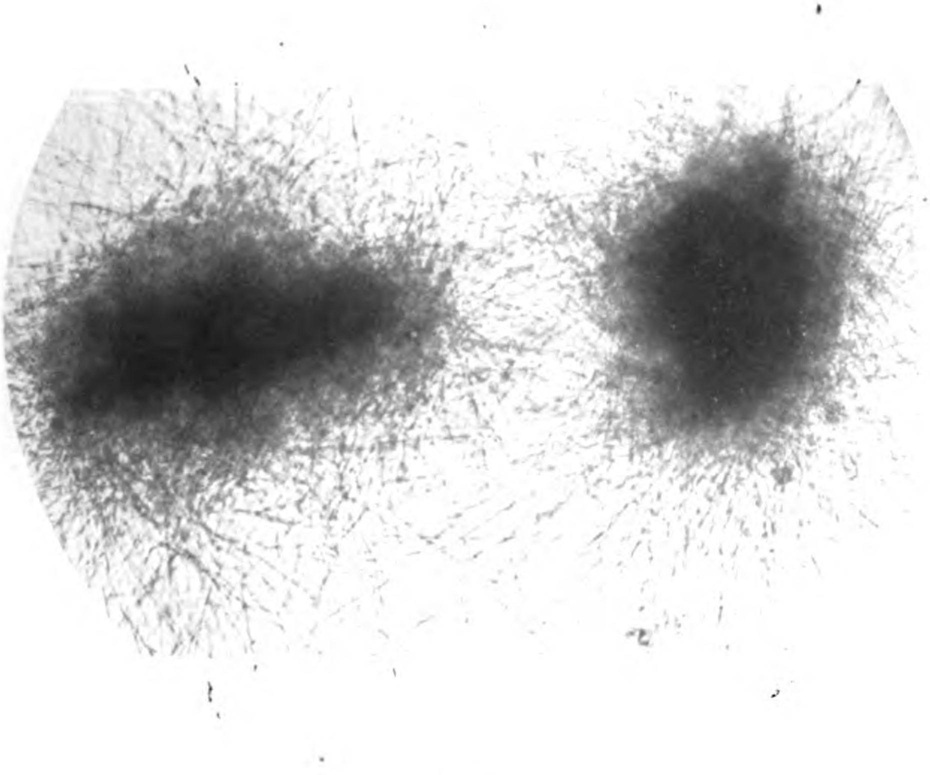


Fig. 4.

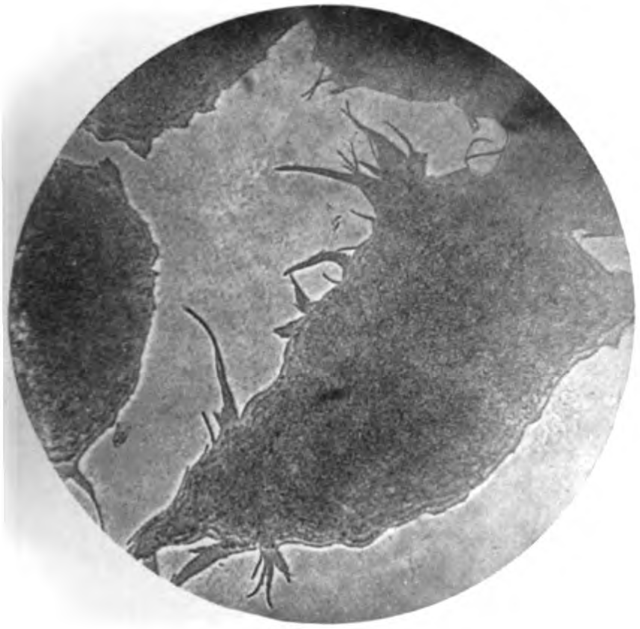


Fig. 3.

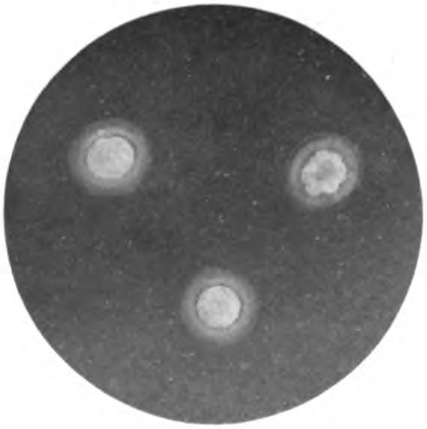


Fig. 5.

scher in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

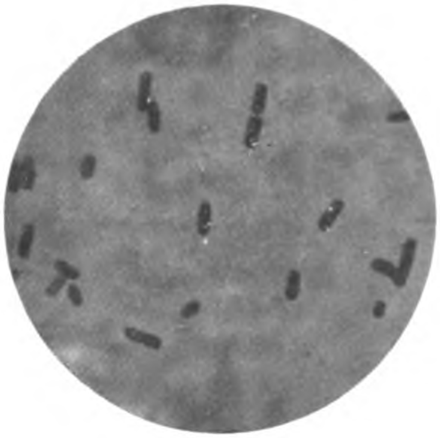


Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

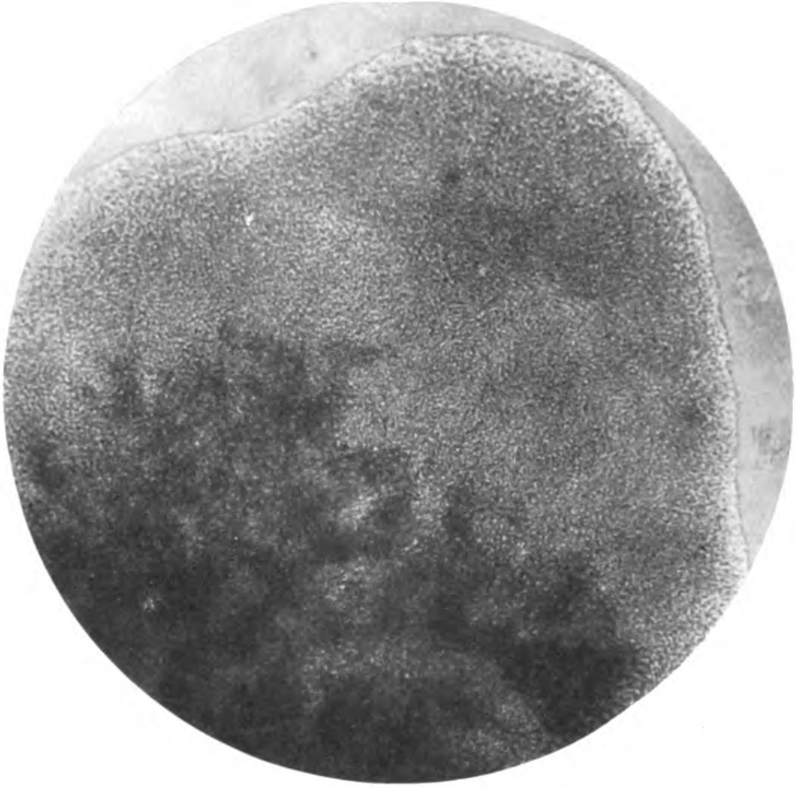


Fig. 1.

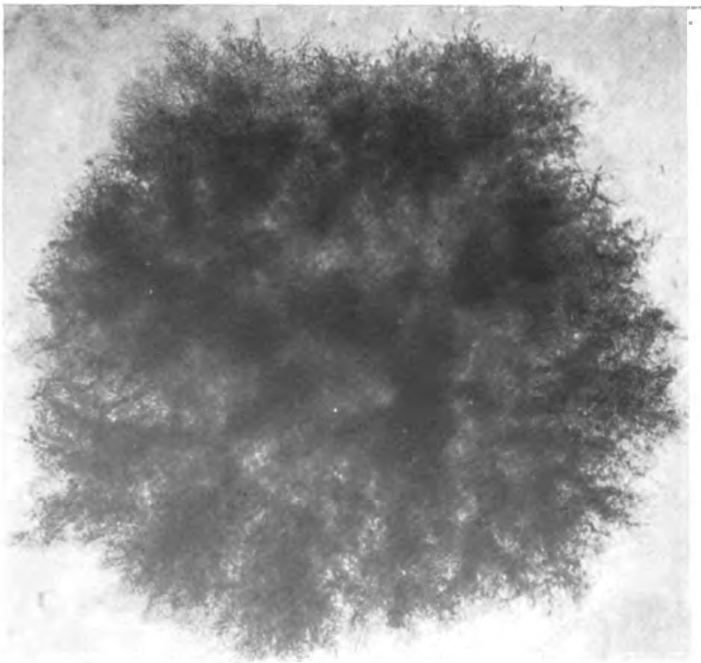


Fig. 2.

Verlag von Gust

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 3.

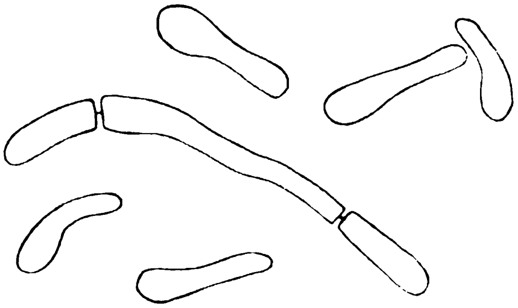


Fig. 5.

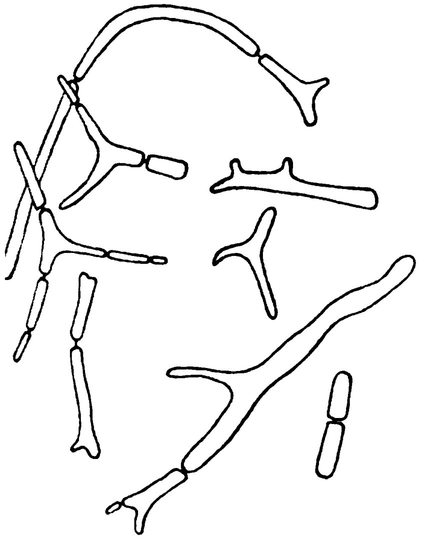


Fig. 4.

Fig. 6.

lscher in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Sauerrahmbutter als brauchbar erwiesen, man wird also auf das Mazun als Säuerungsmaterial verzichten müssen.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Agarplatte. Riesentupfkolonie. 14 Tage bei 18—20° C. Vergr. etwa 1:1.

Fig. 2. Agarplatte. Randpartie einer Tupfkolonie. 48 Stunden alt. Okul. III, Obj. A. Zeiss.

Fig. 3. Dextroseagar. Tupfkultur. Randpartie einer 24 Stunden alten Kolonie (20° C). Okul. III, Obj. A. Zeiss.

Fig. 4. Gelatineplatte. Junge Kolonie. Okul. IV, Obj. A. Zeiss.

Fig. 5. Gelatinetupfkultur. 48 Stunden alte Kolonieen. Vergr. etwa 1:1.

Fig. 6. Gelatinetupfkultur. 8 Tage alte Kolonie. Vergr. etwa 1:1.

Tafel II.

Fig. 7. Individuen eines 12 Stunden bei 34° C gehaltenen Agarstriches. Färbung: Karbolfuchsin. Vergr. etwa 750:1.

Fig. 8. Individuen einer 48 Stunden bei 34° C gezüchteten Magermilchkultur. Färbung: Karbolfuchsin. Vergr. etwa 750:1.

Fig. 9. Individuen einer 24 Stunden bei 34° C gezüchteten Agarstrichkultur. Färbemethode nach Gram. Vergr. etwa 400:1.

Fig. 10. Individuen einer 10 Tage bei 34° C gezüchteten Kartoffelkultur. Färbung: Karbolfuchsin. Vergr. etwa 750:1.

Fig. 11. Sporangien verschiedenen Alters. Komp.-Okul. VIII, Oelimmersion $^1/_{12}$. Tubes 170 mm.

Tafel III.

Fig. 1. Ein Teil von einer Oberflächenkolonie auf Molkenagar. Die in der Tiefe des Substrates gelegene Partie der Kolonie ist auch zum Teil sichtbar. Kultur 6 Tage alt, bei 34—36° C gehalten. Vergr. 90mal.

Fig. 2. Tiefenkolonie einer Molkenagarplatte. Kultur 6 Tage alt; bei 34—36° C gehalten. Vergr. 90mal.

Fig. 3. Individuen einer 24 Stunden bei 34—36° C gehaltenen Magermilchkultur, mit Karbolfuchsin gefärbt. Vergr. etwa 400mal.

Fig. 4. Bakterien von Molkenagarstrich, 3 Tage bei 37° C. Komp.-Ok. VIII, Oelimmersion $^1/_{12}$, Tubuslänge 170 mm.

Fig. 5. Molkenagarschicht, 8 Tage bei 37° C. Komp.-Ok. VIII, Oelimmersion $^1/_{12}$, Tubuslänge 170 mm.

Fig. 6. Pepton-Molkenagarschicht, 8 Tage bei 37° C. Komp.-Ok. VIII, Oelimmersion $^1/_{12}$, Tubuslänge 170 mm.

Nachdruck verboten.

Ueber stickstofffixierende Bakterien. II.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis** (Ref.) und **N. K. Pillai.**

Mit 1 Tafel.

Als Fortsetzung meiner früheren Arbeiten über stickstofffixierende Bakterien [1]) nahm Herr Pillai auf meine Veranlassung hin einige Untersuchungsreihen in Angriff, in denen zugleich auch verschiedene der in den Veröffentlichungen von H. Fischer [2]), H. Christensen [3]), S. und H. Krzemieniewski [4]) u. a. erörterten Fragen einer weiteren Prüfung

1) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 582. Mitteilungen des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig. 1905. Heft 7. p. 57.

2) Fischer, H., Journal f. Landwirtschaft. 1905. p. 61 und 289.

3) Christensen, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 109.

4) Krzemieniewski, S. und H., Bulletin internat. de l'Acad. des sciences de Cracovie. 1906. No. 7. p. 560.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unterzogen werden sollten. Ueber die Ergebnisse dieser Untersuchungen wird er späterhin selbst Bericht erstatten; hier seien nur zunächst einige interessante Beobachtungen mitgeteilt, die wir dabei in Bezug auf die Art und die Wirksamkeit einiger stickstoffixierender Bakterien aus süd-indischer Reisfelderde zu machen Gelegenheit hatten. Das Feld, dem die Erde entstammt, liegt an der Malabarküste in der Nähe von Triwandrum (Trawankur). Als die Bodenprobe entnommen wurde, waren seit der Bestellung zirka 4 Wochen verstrichen und die Fläche war mit Wasser bedeckt. Es handelt sich um einen schweren, gelbrot gefärbten, sehr humusarmen Lehm mit 41 Proz. abschlämmbaren Teilen, 56 Proz. Sand und 3 Proz. Kies. Der Stickstoffgehalt beläuft sich auf 0,1 Proz. Der weitgehende Mangel an organischer Substanz trat besonders deutlich an dem völlig wasserhellen Aussehen des wässerigen Bodenauszuges hervor, der sich dadurch auffallend von den gelb bis braun gefärbten Extrakten aus deutschen Ackererden unterschied.

An gelatinewüchsigen Bakterien war diese Erde auffallend arm. Nur etwa 400000 Keime im Gramm wurden auf der Fleischgelatineplatte gezählt.

Die Stickstoffbindungsversuche mit Erde wurden in ähnlicher Weise wie früher durchgeführt. Als Stammlösung diente wieder Bodenextrakt[1]) + 0,5 ‰ K_2HPO_4, dem in einer Versuchsreihe 1 Proz. Mannit, in einer zweiten 1 Proz. Traubenzucker und in einer dritten 1 Proz. Weinsäure zugesetzt wurde; die letztgenannte Lösung wurde mit Soda neutralisiert. Von den Parallelkolben erhielt der eine einen Zusatz von 1—2 ‰ $CaCO_3$, während der andere ohne Zusatz blieb. Zur Impfung wurde die übliche Erdmenge (10 Proz.) verwendet. Die Versuche mit der Mannit- und mit der Traubenzuckerlösung wurden nach 10, die mit der Tartratlösung nach 20 Tagen beendet. Es ergaben sich folgende Resultate:

In 100 ccm mg N	Mannitlösung		Traubenzuckerlösung		Tartratlösung	
	ohne Kalk	mit Kalk	ohne Kalk	mit Kalk	ohne Kalk	mit Kalk
geimpft	17,08	18,06	16,80	17,50	15,68	15,68
steril	13,84	13,96	13,98	14,12	13,84	13,98
N-Zunahme	3,24	4,10	2,82	3,38	1,84	1,70

Die Stickstoffgewinne sind also keineswegs bedeutend; Kalk wirkte nur in der Mannit- und in der Traubenzuckerlösung und auch da nur in geringem Grade fördernd ein. Zur Erklärung sei zunächst angeführt, daß es in keinem Falle zu einer Deckenbildung kam; auch mikroskopisch war Azotobacter nicht nachzuweisen. Im ganzen ähnelte das Aussehen der Versuchskolben sehr demjenigen, das in der Regel die Mannitlösungen zeigten, zu deren Impfung Erde diente, die im Hochsommer (Juli)

1) Bei der Herstellung des Bodenextraktes befolgen wir jetzt ein vereinfachtes Verfahren, das von Dr. Störmer bei seinen Arbeiten im hiesigen Laboratorium ausprobiert wurde. Anstatt 1 kg Erde mit 2 Liter Wasser 2 Stunden lang über freier Flamme zu erhitzen und das Filtrat auf 600 ccm einzudampfen, wird 1 kg Erde mit nur 1 Liter Wasser angesetzt und in einem bedeckten Topf ½ Stunde im Autoklaven bei 1 Atmosphäre Druck gehalten. Beim Filtrieren bekommt man meist ziemlich genau 600 ccm Extrakt von fast derselben Konzentration wie bei dem ursprünglichen langwierigeren Verfahren.

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

unserem Versuchsfelde Oberholz entnommen war[1]). Wie dort, trat auch unter dem Einfluß der indischen Erde sowohl in der Mannitlösung wie in noch stärkerem Grade in der Traubenzuckerlösung eine lebhafte Gärung hervor, während sich in der allmählich dunkel werdenden Tartratlösung eine schleimige Masse am Boden ansammelte.

Bei der mikroskopischen Prüfung konnten in der Mannitlösung fast ausschließlich große Kokken und Kurzstäbchen, in der Traubenzuckerlösung neben ebensolchen Formen kleine Kokken und verschiedene, zum Teil sporenbildende Stäbchen, in der Tartratlösung vorwiegend Stäbchen differenter Größe und ebenfalls einige kleine Kokken nachgewiesen werden. Azotobacter fehlte, wie gesagt, stets.

Zu den Gußkulturen wurde der entsprechende Mannit-, Traubenzucker- und Tartratagar verwendet. Auf dem Mannitagar entwickelten sich, in Uebereinstimmung mit meinen früheren Befunden, hauptsächlich Kolonieen, die den Pneumonie-Typus deutlich erkennen ließen. Daneben fanden sich in geringerer Zahl etwas unregelmäßig umrandete, flache, gelblich bis rötlich gefärbte, scheibenförmige Bakterienansammlungen, die, wie sich bei näherer Prüfung ergab, einer bisher nicht beschriebenen Art angehörten, die weiterhin als Bacillus malabarensis bezeichnet und beschrieben werden soll. Auf dem Traubenzuckeragar dominierte diese Art, daneben traten Kolonieen kleiner gelber Kokken, sowie einige von Bacillus subtilis gebildete auf. Wenig zahlreich stellten sich die kleinen gelben Kokken auf dem Tartratagar ein, vorwiegend wurden dagegen auf diesem Nährsubstrat zwei gelbe Kurzstäbchen gefunden, die als Bacterium turcosum bezw. chrysogloea anzusehen sein dürften.

Um auch auf etwa vorhandene anaërobe Formen Rücksicht zu nehmen, wurden Schüttelkulturen in langen Glasröhren (nach der sogenannten Burrischen Methode), sowie in Gruberschen Röhren angelegt. Es wurden lediglich fakultativ anaërobe Bakterien isoliert: aus der Mannitlösung typische Pneumonie-Formen, aus der Traubenzuckerlösung zwei sogleich näher zu charakterisierende Radiobacter-Varietäten, aus der Tartratlösung ein Pneumonie-Stamm, eine dem Bacterium lipsiense nahestehende Form, sowie eine gasbildende, braungelb wachsende Art, die weinsäurehaltige Substrate dunkel verfärbt und für die ich in der mir zugänglichen Literatur kein Gegenstück aufzufinden vermochte; sie mag weiterhin als Bacterium tartaricum figurieren.

Ein Vergleich der in den verschiedenen Reinkulturen vorkommenden Gestalten mit jenen, die in den Rohkulturen gesehen wurden, ergab — soweit der mikroskopische Befund eine Entscheidung zuläßt — daß wahrscheinlich alle in irgend beträchtlicher Zahl anwesenden Bakterien isoliert worden waren.

Im einzelnen ist über die morphologischen und kulturellen Merkmale der in den verschiedenen Lösungen vorkommenden Bakterien folgendes zu sagen:

Die aus der Mannit- und aus der Tartratlösung isolierten Pneumonie-Stämme zeigten zum Teil durchaus die typischen Eigenschaften. Sie entsprachen vollständig jenen Stämmen, die ich vor einigen Jahren aus der Erde unseres Versuchsfeldes mittelst Mannitlösung gewann und

1) Wie ich schon kürzlich in einer Anmerkung zu dem Referat über die Arbeit von S. und H. Krzemieniewski mitteilte (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 522), scheint Azotobacter in verschiedenen Böden im Hochsommer regelmäßig sehr stark zurückzutreten.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

näher beschrieben habe[1]). Zum Teil neigten sie jedoch auch dem Aërogenes-Typus zu. So wuchs ein besonders eingehend geprüfter Stamm zwar auf festen und flüssigen Substraten zunächst durchaus pneumonieartig, aber nach Verlauf von 14 Tagen koagulierte er die Milch; er stellte also eine Uebergangsform zwischen verschiedenen Typen der Pneumoniégruppe dar, wie ich deren kürzlich in einer zusammenfassenden Arbeit[2]), in der u. a. auch die bisher bekannten Angehörigen der Pneumoniegruppe zur Behandlung kamen, schon mehrere namhaft gemacht habe.

Die in großer Zahl in der Traubenzucker-, weniger häufig in der Mannitlösung aufgefundene neue, Bacillus malabarensis benannte Art imponierte vor allem durch ihre morphologischen Eigenschaften. Von Fleischagar erhielten wir große, teils kürzere, teils längere, in lebendem Zustande deutlich granulierte, langsam bewegliche, sporenbildende Stäbchen (Fig. 1 der Tafel), die sehr an jene Formen erinnerten, die der von Dr. W. Kuntze früher im hiesigen Laboratorium isolierte Stamm von Bacillus oxalaticus zeigte[3]). In ihrem Wachstum auf den verschiedenen Nährböden differieren die beiden Arten allerdings deutlich, wie aus der nachfolgenden Beschreibung bezw. bei einem Vergleich dieser mit der l. c. gegebenen Darstellung (speziell hinsichtlich der Koloniebildung) zu ersehen ist. Doch dürfte bei einer systematischen Einordnung die neue Art entschieden in die Nähe jener Species zu verweisen sein. Eine bemerkenswerte Uebereinstimmung ergibt sich namentlich bei der Züchtung der beiden Arten auf Mannitagar. Das zweite der auf der Tafel reproduzierten Photogramme, für deren Anfertigung wir Herrn Dr. Kuntze zu Dank verpflichtet sind, zeigt deutlich das überraschende Bild, das sich uns darbot, als wir ein Ausstrichpräparat des Bacillus malabarensis von Mannitagar mikroskopisch prüften. Die in einem zähen Schleim eingebetteten kurzen Stäbchen schwellen meist beträchtlich an und spitzen sich in der Regel erst an einem Ende zu, so daß sie oft die charakteristische Form einer Zuckerrübe annehmen. weiterhin streckt sich auch das andere Ende, es bildet sich eine Spindelform, die allmählich immer schlanker wird. Hängen zwei Stäbchen zusammen, so verändert gewöhnlich zunächst nur eines seine Form, so daß mitunter ganz abenteuerliche Gestalten zum Vorschein kommen. Vergleichsweise legte ich nun auch von unserem Oxalaticus-Stamm eine Mannitagarkultur an. Wie Photogramm No. 4 zeigt, war die Entwickelung in diesem Falle allerdings weit weniger üppig als bei Bacillus malabarensis, dafür die Neigung zur Sporenbildung um so größer, immerhin stellten sich in 8 Tage alten Kulturen ebenfalls die eigenartigen Rübenformen und die noch auffälligeren Doppelformen in nicht geringer Zahl ein. In Mannitlösung bildet Bac. malabarensis oft große kugelige Formen (Fig. 3), die man auf den ersten Blick für Azotobacter-Zellen halten könnte. Desgleichen wären unter den von Fleisch- und Mannitagar stammenden Individuen manche geeignet, zu einer entsprechenden Verwechselung Veranlassung zu geben, namentlich wenn man jene zum Teil sehr auffälligen, teils zugespitzten, teils streptokokkenartigen Azotobacter-Formen berücksichtigt, von denen H. Fischer[4])

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 590.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 115.
3) Beschreibung und Abbildung dieser Art siehe Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. p. 1.
4) Fischer, H., Verh. des naturwiss. Vereins der preuß. Rheinlande etc. 1905. p. 135. Mit 1 Tafel.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Düggeli[1]) Abbildungen veröffentlicht haben. Ganz abgesehen von der Sporenbildung, bringen indessen auch in dieser Richtung die bei der Züchtung auf den verschiedenen Nährböden sich ergebenden Resultate sehr bald die entsprechende Aufklärung. Die nähere Beschreibung der Eigenschaften der neuen Art mag hier eingeschaltet sein.

Bacillus malabarensis n. sp.

Form und Größe: Auf Fleischagar: Große Stäbchen, zum Teil kokkenähnlich, meist zu zweien, deutlich granuliert (sehr an Bac. oxalaticus erinnernd). Breite 1,5—2 μ, Länge 2,5—3 μ (Fig. 1). Auf Mannitbodenextraktagar nach einigen Tagen Zuckerrüben- und Spindelform, 2—3 μ breit, 3,5—6 μ lang (Fig. 2). Nach 3 Wochen nur schlanke Spindelform, zahlreiche Sporen. In Mannitlösung große, vorwiegend kuglige Gebilde, leere Membranen nicht selten (Fig. 3).

Beweglichkeit: Gering, schlangenartig, drehend, nur in sehr jungen Kulturen an einzelnen Individuen deutlich wahrzunehmen. Zahlreiche, diffus verteilte, lange, zarte Geißeln.

Färbbarkeit: Gut mit gewöhnlichen Anilinfarben, auch nach Gram.

Sporenbildung vorhanden. Sporenform oval, 0,8—1 μ breit, 1,5—1,8 μ lang.

Mannit- oder Traubenzuckeragarplatte: Makroskopisch erscheinen die Oberflächenkolonieen als kleine, wenig erhabene, meist kreisrunde, zuweilen etwas unregelmäßige Scheiben (Durchmesser nach 5 Tagen 2—5 mm) von gelblicher bis rötlicher Farbe, im Zentrum undurchsichtig, am Rand, der mitunter gebuchtet ist, heller, durchscheinend. Mikroskopisch stellen sie sich (vergl. Fig. 5) als rundliche Scheiben mit kräftiger, haarartiger Zeichnung dar. Das undurchsichtige gelbe Zentrum ist umgeben von mehreren verschieden abschattierten, bräunlich gefärbten, durchscheinenden Zonen; der Rand ist wenig gebuchtet und oft mit einigen zarten, haarartigen Ausläufern versehen. Die Tiefenkolonieen im Agar erscheinen makroskopisch als kurze, kreisrunde, hellgelbliche bis rötliche undurchsichtige Scheiben; mikroskopisch kreisrund, dunkel, grob granuliert, teils scharfrandig, teils mit warzenartigen Ausläufern versehen (Fig. 6). Die Tiefenkolonieen zwischen Agar und Glas zeigen sich bei makroskopischer Betrachtung als ausgebreitete, durchscheinende Häutchen (Durchmesser 3—5 mm) mit deutlich abgesetztem weißen Zentrum und blasser Randzone. Mikroskopisch ähneln sie den Oberflächenkolonieen, doch sind sie durchscheinender, die haarartige Zeichnung tritt infolgedessen deutlicher hervor und der Rand ist nur gekerbt (vergl. Fig. 7).

Fleischgelatineplatte: Makroskopisch ähneln die Oberflächenkolonieen, wenn sie sich von vornherein obenauf entwickelten, bevor die Verflüssigung einsetzt, jungen Typhushautchen sehr, sind sie dagegen erst nachträglich an die Oberfläche gelangt, so bilden sie kreisrunde, weißliche, durchscheinende Scheiben. Diese beginnen zuerst zu verflüssigen, die typhusähnlichen folgen später nach, die Scheibe löst sich allmählich vollständig auf. Mikroskopisch zeigen die eigentlichen Oberflächenkolonieen in der ersten Zeit die für Typhus charakteristische Buchtung und Rillenbildung, während die aus Tiefenkolonieen entstandenen Oberflächenkolonieen nur wenig gekerbt und haarartig granuliert erscheinen. Nach Eintritt der Verflüssigung werden beide Kolonieformen einander ähnlicher (Fig. 8). Die in der Gelatine liegenden Kolonieen stellen sich als gelbe undurchsichtige, kreisrunde bis linsenförmige Scheiben dar, die, mikroskopisch betrachtet, gelbgrau, undurchsichtig, meist scharfrandig, seltener mit warzigen Auswüchsen versehen erscheinen (Fig. 9). Am Boden entwickeln sie sich zu weißgrauen, kreisrunden Häutchen, die unter dem Mikroskop meist einen glatten, seltener einen gekerbten Rand aufweißen und soweit sie hinreichend dünn ausgebildet sind, die haarige Struktur ebenfalls erkennen lassen (Fig. 10).

Mannitagar- oder Traubenzuckeragarstrich: Ziemlich geringe, flache, glasige, gelbliche Auflage. Kondenswasser mit gelbem Sediment erfüllt.

Traubenzuckeragarstich: Auflage entspricht der Kolonie auf der Platte. Im Stich sehr geringe Entwickelung. Keine Gasbildung.

Fleischagarstrich: Entweder hellgelber, flacher, glänzender, später etwas runzlicher Belag, Kondenswasser klar, mit gelbem Sediment (auf frischem Material), oder etwas erhabener, hellgelber, glänzender, rahmartiger, schleimiger Belag (auf älterem Material).

Fleischgelatinestich: Zunächst bildet sich eine gelbliche Scheibe, dann beginnt allmählich eine zunächst schalenförmige, weiterhin stumpf trichterförmige, schließ-

1) Düggeli, Verh. d. schweizer. naturf. Gesellschaft. Jahresvers. Luzern 1906. (Tafel II und III.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lich cylindrische Verflüssigung der Gelatine. Die verflüssigte Gelatine ist stark getrübt, am Grunde sammelt sich in reichlicher Menge gelbes Sediment. Im Stich wird fast gar keine Entwickelung sichtbar.

Bouillon: Wenig getrübt. Lockere, sehr leicht zu Boden sinkende, flockige Ansammlungen an der Oberfläche (keine zusammenhängende Haut). Ziemlich kräftige, gelbliche Ringbildung. Reichliches gelbliches, flockig-schleimiges Sediment.

Milch: Nach 2 Wochen reichliches gelbliches Sediment. Sehr langsam wird die Milch aufgehellt.

Kartoffel: Trockener, bröckeliger, grau- bis schwefelgelber, mattglänzender Belag.

Der vereinzelt in der Traubenzuckerlösung vorkommende Bacillus subtilis zeigte den von Lehmann und Neumann[1]) als typisch angegebenen Charakter.

Dagegen weichen die aus der gleichen Lösung unter anaëroben Bedingungen gezüchteten Radiobacter-Varietäten in einigen Punkten von der Grundform, deren Verhalten ich früher[2]) eingehend schilderte, beträchtlich ab. Das mikroskopische Verhalten (Form und Beweglichkeit) und ebenso das Wachstum auf Agar, Gelatine, Bouillon und Kartoffel ist indessen so übereinstimmend, daß ich die isolierten Stämme, trotzdem sie unter schwacher Gasbildung aus Mannit und Traubenzucker anaërob zu gedeihen vermögen und die Milch nicht koagulieren, sondern bis auf die Bildung einiger Gasblasen unverändert lassen (als var. gasoformans) zu Radiobacter glaube stellen zu müssen. Ich habe l. c. auf die nahe Verwandtschaft hingewiesen, die meines Erachtens zwischen Bacterium radiobacter und radicicola einerseits und den Formen aus der Gruppe des Bact. pneumoniae andererseits besteht. Es kann danach nicht überraschen, wenn sich auch in der Radiobacter-Gruppe neben nicht gasbildenden gasbildende und neben milchkoagulierenden nicht koagulierende Formen finden. Die an der Pneumoniegruppe gesammelten Erfahrungen lassen es mir nicht statthaft erscheinen, die beiden in Rede stehenden Stämme als Vertreter einer neuen Art zu betrachten.

Die kleinen gelben Kokken, die sowohl in der Traubenzucker- wie in der Tartratlösung vorkamen, müssen wohl der von Lehmann und Neumann[3]) aufgestellten Sammelart Micrococcus sulfureus eingeordnet werden, zu der die genannten Autoren „alle zitronengelben, sowie grünlich- bis graulichgelben, die Gelatine nicht verflüssigenden Kokken“ zusammengefaßt haben. Da die von uns isolierte Form im allgemeinen sehr langsam wächst, so könnte sie speziell als Micrococcus sulfureus var. tardigradus (Flügge) Lehmann et Neumann gelten. Die Einzelindividuen sind ziemlich klein (0,6 μ). Der Belag auf Fleischagar ist dünn, durchscheinend, hellgelb, glänzend. In der Fleischgelatinestichkultur bildet sich eine kleine hellgelbe, glänzende, wenig erhabene, kreisrunde, nicht verflüssigende Auflage; im Stich ist die Entwickelung dürftig. Die Bouillon wird schwach getrübt, es bildet sich ein dünner, allmählich gelb werdender Ring und reichlicher, schleimiger, gelber Bodensatz. Die Milch wird kaum sichtbar verändert; erst nach Verlauf von 5 Wochen sind an der Oberfläche und am Boden geringe gelbe Bakterienansammlungen deutlich wahrzunehmen und die Milch beginnt etwas durchscheinend zu werden. Auf der Kartoffel entsteht ein trockener, flacher, krümliger, hellgelber, ausgebreiteter Belag.

Neben dem Micrococcus sulfureus und einem typischen

1) Lehmann und Neumann, Diagnostik. 3. Aufl. p. 353.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 590.
3) l. c. p. 190.

Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Pneumoniestamm wurden, wie oben erwähnt, aus der Tartratlösung noch 4 verschiedene, gelbwachsende Kurzstäbchen isoliert. Der eine Stamm zeigte in allen Richtungen die für Bacterium turcosum charakteristischen Eigenschaften [1]). Im Fleischgelatinestich sank die Auflage zunächst ohne zu verflüssigen ein, sehr spät machte sich auch eine sehr geringe Erweichung der Gelatine bemerklich. Eine zweite bewegliche Form dürfte als Bacterium chrysogloea anzusehen sein. Sie verflüssigte die Gelatine nicht und koagulierte Milch, zeigte also in diesen beiden Richtungen dasselbe Verhalten wie der eine der von Lehmann und Neumann [2]) untersuchten Stämme von Bacterium fulvum, von welcher Art die genannten Autoren vermuten, daß sie das unbewegliche Gegenstück zu Bact. chrysogloea darstellt. Die Eigenschaften der auf anaërobem Wege aus der Tartratlösung erlangten, dem Bact. lipsiense nahestehenden Form decken sich im wesentlichen mit der von mir [3]) mitgeteilten Diagnose jener Art. Nur war im vorliegenden Falle das Wachstum üppiger und die Farbstoffbildung etwas intensiver als bei den damals aus einer Kalkstickstofflösung isolierten Stämmen, auch erreichten die Einzelindividuen diesmal etwas ansehnlichere Dimensionen ($^3/_4$—1 μ Breite, 1—1,5 μ Länge, während früher $^1/_2$—$^3/_4$ μ : $^3/_4$ —1 μ gemessen wurde).

Die ebenfalls aus der Tartratlösung isolierte, Bact. tartaricum benannte, braungelb wachsende Art ist besonders auffällig durch reichliche Gasproduktion in Mannit- und Traubenzuckeragar. Außerdem gibt sie Veranlassung zum Dunkelwerden tartrathaltiger Substrate. Ihre morphologischen und kulturellen Eigenschaften sind die folgenden:

Bacterium tartaricum n. sp.

Form und Größe: Plumpe Kurzstäbchen; $^3/_4$—1 μ breit, 1—$1^1/_2$ μ lang.
Beweglichkeit: Konnte nicht wahrgenommen werden.
Färbbarkeit: Gut mit gewöhnlichen Anilinfarben, nach Gram entfärbt.
Sporenbildung: Konnte nicht wahrgenommen werden.
Fleischgelatineplatte: Makroskopisch stellen sich die Oberflächenkolonieen als kleine, 1—2 mm im Durchmesser haltende, gelbliche, schleimig-glänzende Scheibchen dar, die Tiefenkolonieen als kleine gelbe Punkte. Verflüssigung der Gelatine findet nicht statt. Mikroskopisch erscheinen die Oberflächenkolonieen hell durchscheinend, mit unregelmäßig verteilter grober hellbrauner Granulierung, die sich um das kompakte Zentrum inselartig verteilt und am Rande in feinerer Struktur wieder zusammenschließt. (Das Bild ähnelt, obwohl diese Art die Gelatine nicht erweicht, einigermaßen dem, das junge, im Beginn des Zerfließens stehende Fluorescens-Kulturen zeigen.) Die Tiefenkolonieen sind unter dem Mikroskop dunkelbraun, undurchsichtig.
Fleischagarstrich: Flacher, ausgebreiteter, hellbräunlichgelber, glänzender Belag. Kondenswasser getrübt.
Mannit- und Traubenzuckeragar: Glasige, weißliche, zum Teil hellbräunliche Auflage. Kräftige Entwickelung im Stich. Kräftige Gasbildung.
Tartratagar; Bräunlichgelbe Auflage, hellbraunrote Verfärbung der ganzen Masse.
Fleischgelatinestich: Gelbliche bis bräunliche, unregelmäßig umrandete Auflage. Die einzelnen Partieen sind nicht gleichmäßig dunkel gefärbt (analog der ungleichen

---

1) Vergl. Lehmann und Neumann, l. c. p. 296; Migula, System der Bakt. Bd. II. p. 937; Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 600. Nebenbei sei bemerkt, daß das, was Kaserer (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. p. 689) als Bac. pantotrophus n. sp. beschrieb, offenbar nichts anderes ist als ein Wasserstoff-oxydierender Stamm des Bact. turcosum. Sowohl die morphologischen wie die kulturellen Eigenschaften stimmen Punkt für Punkt mit den bekannten Beschreibungen überein. Allerdings oxydieren nicht alle Stämme dieser Art Wasserstoff, ebensowenig wie die Befähigung zur Stickstofffixierung allen eigen ist, doch genügt naturgemäß diese eine Abweichung nicht zur Begründung einer neuen Art.

2) Lehmann und Neumann l. c. p. 300.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 100.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verteilung der gefärbten Granula in den Kolonieen). Im Stich ziemlich geringe Entwickelung, doch bis zum Boden.

Bouillon: Gleichmäßige schwache Trübung. Schleimiger grauer Ring, lockeres, sehr dünnes Häutchen, geringer, gelblichgrauer, schleimig-flockiger Bodensatz.

Milch: Wird nicht sichtbar verändert.

Kartoffel: Reichlicher, glänzender gelber Belag mit einem Stich ins Bräunliche.

Mit den gewonnenen Reinkulturen wurden Stickstoffbindungsversuche in 1-proz. Mannit- und Traubenzuckerbodenextrakt ausgeführt[1]). Da schon bei der Impfung mit Erde die Tartratlösung nur sehr geringe Stickstoffgewinne gegeben hatte, sahen wir hier von ihrer Verwendung ab. Leider war der Vorrat an Extrakt aus indischer Erde sowie an solcher Erde selbst erschöpft und es mußte statt dessen Extrakt aus unserem Versuchsfeldboden zur Herstellung der Lösungen verwendet werden. Nach dreiwöchiger Versuchsdauer[2]) wurden nachstehende Resultate erlangt:

Impfmaterial	Lösung	Kalkzusatz	mg N in 100 ccm		
			Anfang	Schluß	Zunahme
Bact. pneumoniae aus Mannit, Stamm I	Mannit	—	2,92	4,48	1,56
„ I	„	+	3,06	5,32	2,26
desgl. Stamm II (Aërogenes)	„	—	2,92	4,90	1,98
„ „ II „	„	+	3,06	5,18	2,12
„ Stamm I und Stamm II	„	—	2,92	4,48	1,56
„ I „ „ II	„	+	3,06	5,18	2,12
Bact. pneumoniae aus Tartratlösung	Traubenzucker	—	2,10	3,86	1,76
„ „	„	+	2,20	3,92	1,72
Bact. radiobacter var. gasoformans Stamm I	„	—	2,10	2,62	0,52
„ I	„	+	2,20	2,60	0,40
desgl. Stamm II	„	—	2,10	2,52	0,42
„ „ II	„	+	2,20	2,64	0,44
Bac. malabarensis aus Mannitlösung	Mannit	—	2,92	4,48	1,56
„ „	„	+	3,06	4,62	1,56
desgl. aus Traubenzuckerlösung	Traubenzucker	—	3,06	4,62	1,56
„ „	„	+	3,20	4,62	1,42
Stamm aus Mannit von Fleischagar	Mannit	—	2,50	4,76	2,26
„ „	„	+	2,78	4,90	2,12
Bac. oxalaticus, Sammlungskultur	„	—	2,04	2,56	0,52
„	„	+	2,16	2,72	0,56
„	Traubenzucker	—	2,16	2,58	0,42
„	„	+	2,20	2,70	0,50
Bac. subtilis aus Traubenzucker	„	—	2,64	2,82	0,18
„ „	„	+	2,92	3,06	0,14
Micrococcus sulfureus aus Traubenzucker	„	—	2,64	5,60	2,96
„ „	„	+	2,92	5,74	2,82
Bact. turcosum aus Tartratlösung	„	—	2,64	3,78	1,14
„ „	„	+	2,92	4,48	1,56
Bact. chrysogloea „ „	„	—	2,64	4,06	1,42
„ „	„	+	2,92	4,34	1,42
Bact. lipsiense „ „	„	—	2,10	2,34	0,24
„ „	„	+	2,20	2,36	0,16
Bact. tartaricum „ „	„	—	2,10	2,46	0,36
„ „	„	+	2,20	2,52	0,32

1) Betr. Methodik siehe l. c. Bd. XIV. p. 593.

2) Da die Stickstofffixierung durch Reinkulturen regelmäßig weniger lebhaft vollzogen wird als durch Rohkulturen, so entschieden wir uns hier allgemein für die längere Versuchsdauer.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die analytischen Befunde standen in vollem Einklang mit dem Aussehen der Versuchskolben. Bact. pneumoniae rief starke Trübung hervor und reichlichen flockigen Bodensatz. Bac. malabarensis verhielt sich ebenso. Microc. sulfureus gab gleichfalls starke Trübung und viel gelben Bodensatz. Bact. turcosum und chrysogloea lieferten zwar starke Trübung, aber wenig Bodensatz. Wenig Trübung und wenig Bodensatz stellte sich in abnehmendem Grade in den mit Bact. radiobacter, Bact. tartaricum und Bact. lipsiense geimpften Kolben ein. Keine Trübung und nur sehr geringen Bodensatz lieferte Bac. subtilis.

Die geringe Veränderung des Stickstoffgehaltes in den mit Bac. subtilis geimpften Kolben liegt innerhalb der analytischen Fehlergrenze. Daß diese Art nicht in deutlich wahrnehmbarem Grade zur Stickstoffbindung befähigt ist, ist bekannt[1]). Ebenso kann Bact. lipsiense nicht mit Sicherheit zu den stickstofffixierenden Arten gerechnet werden. Bei Bact. tartaricum liegt die Möglichkeit dazu vor, und sowohl Bac. oxalaticus wie Bact. radiobacter haben zweifellos geringe Stickstoffmengen gebunden. Die infolge der Tätigkeit der beiden gasbildenden Radiobacter-Stämme erlangten Stickstoffgewinne (0,4 bis 0,5 mg) sind etwas geringer ausgefallen als die früher[2]) bei Verwendung typischer Stämme konstatierten Zunahmen (0,7—0,9 mg). Bact. turcosum, chrysogloea und Bac. malabarensis haben etwa gleich intensiv gewirkt; insbesondere fiel das Resultat für den diesmal isolierten Stamm von Bact. turcosum wesentlich günstiger aus als bei dem von mir[3]) früher mit einem anderen Stamme angestellten Versuche, bei dem die Zunahme nur 0,28 mg betrug. Die (allerdings noch nicht lange Zeit fortgesetzte) Züchtung auf Fleischagar hat bei Bac. malabarensis zunächst durchaus keine Verminderung der Befähigung zur Stickstoffbindung im Gefolge gehabt. Recht ansehnlich sind auch die bei Verwendung der verschiedenen Pneumoniestämme sich ergebenden Stickstoffzunahmen. Ich erhielt früher[4]) unter analogen Verhältnissen 1,12—1,54 mg. Bei den deutlich säurebildenden, nach dem Aërogenes-Typus hinneigenden Pneumonievarietäten (aus Mannit) hat der Kalkzusatz entschieden förderlich gewirkt; dies ist aber der einzige Fall, wo er es tat. Auffallend kräftig stickstofffixierend hat der isolierte Stamm von Micr. sulfureus gewirkt.

Micrococcus sulfureus und Bacillus malabarensis sind demnach den kräftiger wirksamen Stickstoffassimilanten hinzuzufügen. Sie vermehren die Zahl der auch auf den Fleischnährböden gut wachsenden Angehörigen dieser physiologischen Gruppe um einige interessante Vertreter. Desgleichen sind nun bereits verschiedene gelbwachsende Kurzstäbchen als zur Stickstofffixierung befähigt erkannt worden, zu denen übrigens auch das unbewegliche, gelatineverflüssigende Bacterium Krakataui gehört, das de Kruyff[5]) aus Erde von der Insel Krakatau isolierte und von dem er (in mehrere Monate fortgesetzten Kulturen) pro Gramm Zucker 1—2 mg betragende Stickstoffgewinne erhielt. Besonders

1) Vergl. Jacobitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LXV. 1903. p. 97.
2) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 594.
3) l. c. p. 713.
4) l. c. p. 594.
5) de Kruyff, Bull. du Dép. de l'Agriculture aux Indes néerland. No. IV. 1906. p. 9.

beachtenswert aber ist es, daß in der jetzt von uns untersuchten süd-indischen Erde an Stelle des fehlenden Azotobacter verschiedene Formen aus der Pneumonie-Gruppe traten, die namentlich in der Mannitlösung das Feld beherrschten. Es ergibt sich somit trotz der ganz verschiedenen Ausgangsmaterialien eine bemerkenswerte Uebereinstimmung zwischen diesen Resultaten und jenen, die ich im Juli 1904 bei Verwendung von Erde erhielt, die dem in Oberholz gelegenen Versuchsfeld des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig entstammte.

Leipzig, 22. April 1907.

Tafelerklärung.

Fig. 1—4 1200-fach, Fig. 5—10 10-fach vergrößert.

Fig. 1. Bac. malabarensis von Fleischagar. Stäbchen und streptokokkenartige Verbände. Vereinzelte freiliegende Sporen.

Fig. 2. Bac. malabarensis von Mannitagar. In Schleim eingebettete Rüben-, Spindel- und Doppelformen.

Fig. 3. Bac. malabarensis aus Mannitlösung. Große Kugelformen und entleerte Membranen.

Fig. 4. Bac. oxalaticus von Mannitagar. Stäbchen, Sporen, Rüben- und Doppelformen.

Fig. 5—7. Bac. malabarensis. An der Oberfläche, im Substrat und am Boden gelegene, 5 Tage alte, bei 20° C gewachsene Kolonieen von Mannitagar.

Fig. 8—10. Dasselbe von Fleischgelatine. Die Oberflächenkolonie hat begonnen zu verflüssigen, rechts und links von ihr die von der Verflüssigungsschale herrührenden Schatten.

Inhalt.

Huss, Harald, Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien. Bacillus esterificans Maassen und Pseudomonas Trifolii nov. spec., p. 50.

Koestler, Guido, Der Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien, p. 40.

Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt, p. 1.

Löhnis, F. und **Pillai, N. K.,** Ueber stickstofffixierende Bakterien II, p. 87.

Sato, Y., Untersuchungen über Schleimbildung in Milch, p. 27.

Weigmann, H., Gruber, Th. und **Huss, H.,** Ueber armenisches Mazun, p. 70.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 8. Juli 1907.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 1.

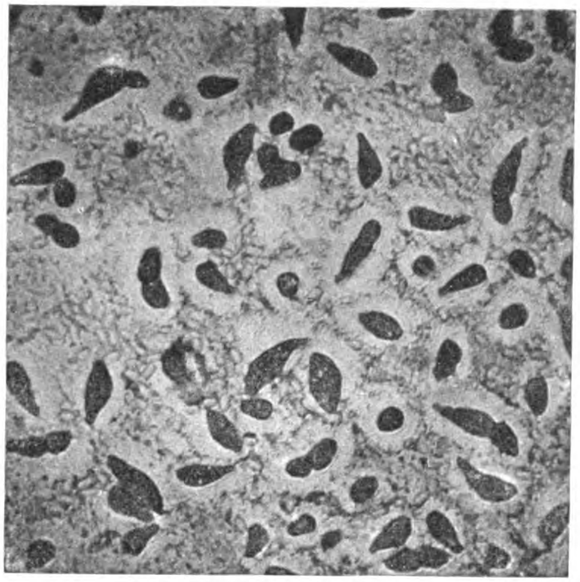


Fig. 2.

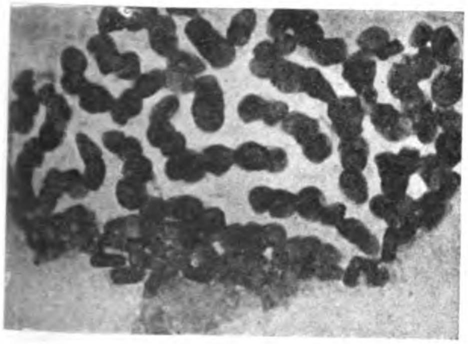


Fig. 3.

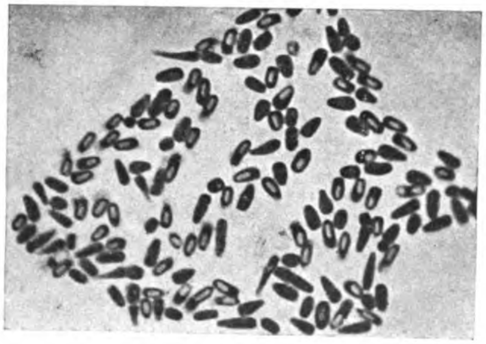


Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

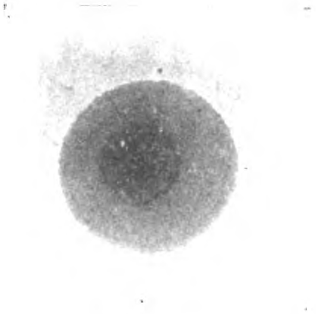


Fig. 7.

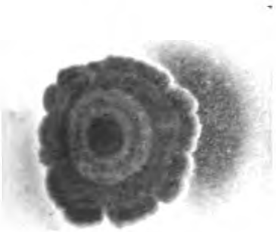


Fig. 8.

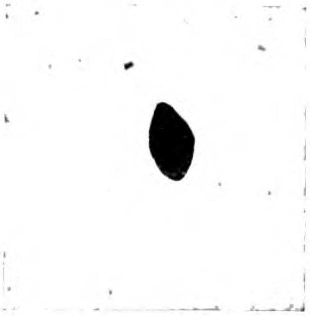


Fig. 9.

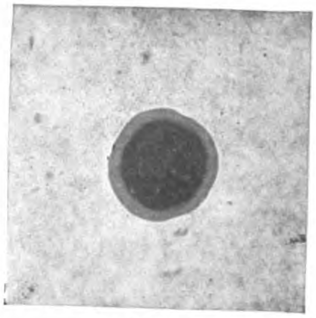


Fig. 10.

W. Kuntze, phot.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 4|6.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **J. Kürsteiner,** Assistent.

Mit 6 Figuren.

(Fortsetzung.)

Ueberaus praktisch erweist sich der Verschluß für anaërobe Milchkulturen. Handelt es sich darum, Anaërobe aus Kot, Erde, Käse etc. zu isolieren, so impft man z. B. 20 ccm sterilisierte Milch in sterilen Gläsern mit einer kleinen Menge oder Aufschwemmung des eventuell vorher pasteurisierten Materials verschließt die Kultur anaërob und stellt sie zu 37°. Nach kürzerer oder längerer Zeit, je nach der Menge und Art des Impfmaterials, tritt Zersetzung der Milch auf. Nun haben wir es in der Hand, irgend eine Kultur zu öffnen; wir können überhaupt vorgehen, genau als ob wir aërob arbeiten würden und zwar bei derselben peinlichen Reinlichkeit und in keiner Weise vermehrter Infektionsgefahr. Impfen wir eine große Oese des entstandenen klaren Serums, z. B. in Milchzuckeragarhohe Schichten nach Burri, so zeigen uns diese sehr rasch prächtig entwickelte anaërobe Kolonieen, die wir dann einfach in Stiche abzuimpfen brauchen, um in vielen Fällen sofort in den Besitz einer anaëroben Reinkultur zu gelangen. Um uns über die Reinheit derselben zu vergewissern, lassen wir sie nochmals, eventuell oftmals, hohe Schichten resp. Stiche passieren. So haben wir in denkbar kürzester Zeit Reinkulturen von Putrificus coli Bienstock, vom beweglichen und unbeweglichen Buttersäurebacillus Schattenfroh und Grassberger und von anderen Anaëroben gewonnen.

Aber nicht nur als Anreicherungsverfahren für die Isolierung, sondern auch für die Charakterisierung Anaërober eignet sich die nach Wright verschlossene Milchkultur ausgezeichnet. Putrificus z. B. bringt Milch unter anaërobem Verschluß bei 37° nach Ablauf von 5 bis 8 Tagen mit größter Sicherheit zur typischen „explosionsartig“ auftretenden Gerinnung.

In ganz gleicher Weise wie irgend eine andere Kultur mit anaërobem Verschluß lassen sich anaërobe Esmarchsche Rollkulturen herstellen. Diese würden, falls die Abimpfung der Kolonieen bequemer und zuverlässiger wäre, anaërobe Platten ersetzen.

Es war sehr naheliegend, zu versuchen, den modifizierten, überaus zweckmäßigen Wrightschen Verschluß auch für ein anaërobes Plattenverfahren zu verwerten. Die sehr zahlreichen, im historischen Teil erwähnten Vorschläge zur Herstellung anaërober Platten, weisen am deutlichsten auf die Notwendigkeit hin, ein tadelloses, nicht verbesserungsfähiges Plattenkulturverfahren auszudenken. Den bis jetzt bekannten anaëroben Plattenverfahren haftet der Kardinalfehler der sehr erschwerten bis verunmöglichten Kontrolle der einzelnen Platte an. Wenn man

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diesen Mangel auszuschalten versuchte dadurch, daß man jede Platte einzeln anaërob verschloß — was jedenfalls prinzipiell das Richtigste ist — so geschah es meist auf Kosten der handlichen Durchführbarkeit, Einfachheit und Billigkeit des Verfahrens im allgemeinen und des Verschlusses der einzelnen Kultur im speziellen. Vergl. Beck (21), Bombicci (22), Blücher (20), Dreuw (25), Epstein (29), Gabritschewsky (47), Kamen (75), Kitasato (66), Migula (90), Petruschky (113), Roth (131), van Senus (141), Slupski (143), Stüler (142), Trambusti (152), Turró (151).

Für unser Plattenverfahren war die Frage des Verschlusses von vorneherein gelöst. Es handelte sich also lediglich darum, den modifizierten Wrightschen Verschluß mit einer möglichst einfachen, billigen und zweckmäßigen Platte zu kombinieren. Wir glauben diese Aufgabe in allgemein befriedigender Weise gelöst zu haben. Das Prinzip unseres anaëroben Plattenverfahrens ist folgendes:

Ein steriler kleiner rechteckiger Glastrog mit geimpftem Nährboden (die anaërobe Platte) wird in ein steriles, weites Reagenzglas geschoben, dieses rasch nach Wright verschlossen und in den Brutschrank gestellt. Damit ist mit anaëroben Platten erreicht, was den Hauptvorteil beim aëroben Plattenverfahren ausmacht: zeitlich und örtlich beliebige, makro- und mikroskopische Kontrolle jeder Platte. Der bei unserem anaëroben Plattenverfahren zur Verwendung kommende kleine Glastrog ist mit Einbezug des äußeren Randes 80 mm lang, 30 mm breit und 7 mm tief. Sein Fassungsvermögen beträgt $76 \cdot 26 \cdot 5$ mm $= 9880$ cmm, rund 10 ccm. Der kleine Glastrog ist so hergestellt, daß an einer Bodenplatte die Randleisten mittelst hitze- und säurebeständigem Kitt befestigt sind.

Behufs Sterilisation legt man einen solchen Glastrog in eine geschlossene Petri-Schale und sterilisiert nun beides in üblicher Weise im Trockenschrank. Will man einen derart sterilisierten Glastrog mit Nährboden, z. B. Milchzuckeragar, beschicken, so legt man die den Trog enthaltende Petri-Schale auf die Kupferplatte des Plattengießapparates, hebt nun behutsam den Deckel der Petri-Schale und leert mit Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln den flüssigen Agar in den Glastrog. Hier erstarrt der Nährboden rasch, und wir können nun impfen, sei es mittelst Oese oder Platinpinsel, indem wir das Impfmaterial sorgsam über die Agarfläche streichen. Dabei halten wir den Deckel der Petri-Schale immer möglichst niedrig und schützen so die zu impfende Agarfläche vollständig vor Infektion. Nachdem die Impfung geschehen ist, kehren wir die Petri-Schale um, so daß der in ihr befindliche Glastrog in umgekehrter Lage auf den Deckel der Petri-Schale zu liegen kommt. Wir können nun natürlich den Boden der Petri-Schale abheben, ohne Infektion befürchten zu müssen. Inzwischen haben wir ein passendes steriles Reagenzglas zurecht gelegt. Dieses muß 20—25 cm lang sein und eine Oeffnung haben, die gestattet, den Glastrog resp. die Platte mühelos einzuschieben und zum Grunde gleiten zu lassen. Den sterilen Wattepfropf des Reagenzglases fassen wir nun mit dem kleinen Finger und Ringfinger der rechten Hand und ziehen ihn heraus. Sodann fassen wir den umgekehrt in der Petri-Schale resp. in deren Deckel liegenden Glastrog, d. h. die anaërobe Platte, seitlich mit Daumen und Zeigefinger, schieben sie, die geimpfte Nährbodenfläche natürlich nach unten, rasch in das Reagenzglas, lassen sie bis zum Grunde gleiten und schließen das Reagenzglas mit dem sterilen Wattepfropf ab. Nun machen

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wir rasch den anaëroben Verschluß in gewöhnlicher Weise, indem wir den sterilen Pfropf abflammen, den verkohlten, aus dem Glase ragenden Teil mittelst Schere abschneiden und den Pfropf dann soweit ins Reagenzglas schieben, bis er auf der Platte aufstößt. Dadurch ist letztere vollständig fixiert. Auf den sterilen Wattepfropf kommt ein ziemlich voluminöser Bausch hygroskopischer Watte zur Aufnahme von 10 ccm alkalischem Pyrogallol, d. h. 5 ccm Pyrogallussäure und 5 ccm Kalilauge von bekannter Konzentration. Sowie dies geschehen ist, wird der anaërobe Verschluß vervollständigt durch Eintreiben eines in diesem Falle ziemlich großen, gut passenden, mit Wasser an den Wandungen befeuchteten Kautschukpfropfens und schließlich wird das verschlossene Reagenzglas aufrecht in einem Ständer oder größeren Gefäß in den Brutschrank gestellt.

Allfällig auftretendes Kondenswasser kann nicht stören, indem es abläuft und sich am Grunde ansammelt. Nebenstehende Abbildung veranschaulicht eine fertige anaërobe Plattenkultur in $^2/_3$ natürlicher Größe.

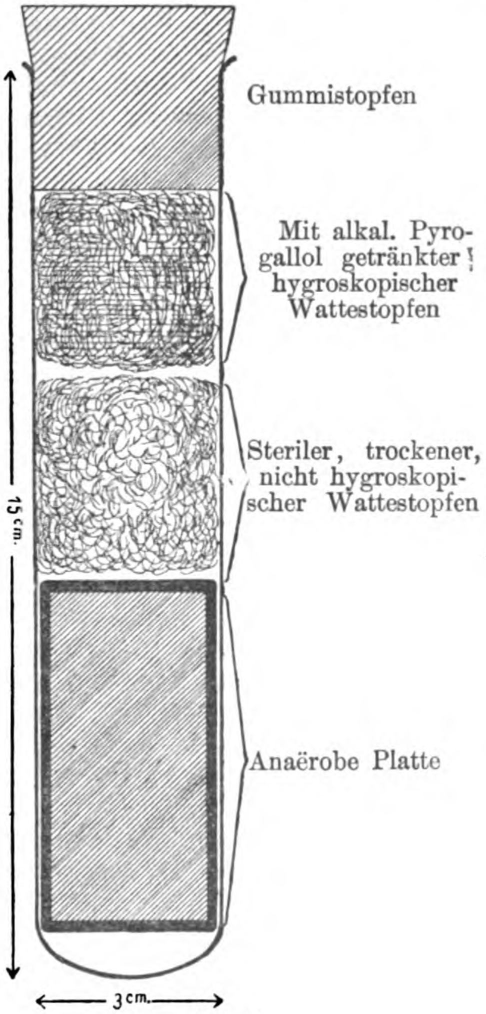


Fig. 3.

Die Vollkommenheit des anaëroben Verschlusses unseres Plattenverfahrens prüften wir in folgender Weise: Eine Platte wird mit sterilem durch Methylenblau intensiv gefärbtem Agar beschickt, in gewöhnlicher Weise (5:5 ccm) verschlossen und zu 37° C gestellt. Nach 3 Tagen ist der Agar vollständig entfärbt, und es bleiben auf den ersten Blick mit Kolonieen Aehnlichkeit zeigende Kristallisationsprodukte zurück. Die Ansicht, es werden in der langen Zeit von 3 Tagen die aëroben Mikroorganismen Gelegenheit genug haben, die anaëroben zu überwuchern, ist unter diesen Umständen tatsächlich nicht gerechtfertigt. Von vornherein ist klar, daß eine gefärbte Schicht nicht plötzlich durch ihre ganze Mächtigkeit entfärbt wird, sondern daß eben zuerst die obersten, dem sauerstoffabsorbierenden Mittel zunächst gelegenen und erst nachher die tieferen Schichten den Sauerstoff abgeben. Es können also in der obersten Schicht, d. h. da, wo das Impfmaterial liegt, schon lange anaërobe Bedingungen vorherrschen, während in tiefer gelegenen Partieen noch relativ viel Sauerstoff vorhanden ist. Dies läßt sich mit Leuchtbakterienkulturen sehr schön demonstrieren. Verschließen wir eine sehr intensiv leuchtende Strichkultur von Bact. phosphoreum im gewöhnlichen Reagenzglas anaërob (1 : 1), so erblaßt der dem Verschluß zunächst gelegene Teil des Striches schon nach $^1/_2$ Stunde sehr merklich. Nach 2 Stunden leuchtet die Oberfläche

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des ganzen Belages bedeutend weniger intensiv als die untere dem Nährboden direkt aufliegende Seite. Das ist sehr leicht erklärlich. Außerhalb des Nährbodens ist der Sauerstoff absorbiert und es kommt nun der innerhalb des Nährbodens vorhandene Sauerstoff derart zur Wirkung, daß die von der Stickstoffatmosphäre abgekehrte Seite im Kontakt mit dem Nährboden bedeutend intensiver leuchtet. Geht nun die Sauerstoffabsorption weiter, so konstatiert man nach 15 Stunden noch eine kleine leuchtende Stelle zu unterst im Strich, also einerseits in der größten Entfernung vom Pyrogallolpfropf und andererseits über der höchsten Nährbodenschicht. Nach 48 Stunden ist noch ein intensiv leuchtender Punkt zu sehen, nach 72 Stunden ist jedes Leuchten verschwunden, tritt jedoch sofort den Strich entlang von oben nach unten vorschreitend wieder auf, sowie man den Kautschukpfropf löst resp. Sauerstoff zutreten läßt.

In ganz ähnlicher Weise läßt sich mit Leuchtbakterien die vollkommene Sauerstoffabwesenheit für unser Plattenverfahren beweisen. Ein intensiv leuchtender Strich auf einer Kochsalz-Gelatineplatte ist je nach der Schichthöhe des Nährbodens nach $1^1/_2$, 3—6 Stunden unter anaërobem Verschluß vollständig verblaßt.

Diese Tatsache dürfte dazu beitragen, unser überaus einfaches, sauberes und zweckmäßiges Plattenverfahren bei allen Arbeiten zu empfehlen, die überhaupt anaërobe Platten verlangen.

4. Vergleichende Prüfung der Entwickelung von Anaëroben auf Platten einerseits und in hoher Schicht andererseits.

Im allgemeinen werden die Plattenverfahren denjenigen in hoher Schicht vorgezogen. Mit Unrecht, um so mehr als ja die Kultur in hoher Schicht wenigstens in der Modifikation von R. Burri selbst in ein Plattenverfahren verwandelt wird. Sie vereinigt also gewissermaßen beide Verfahren in sich. Um die Leistungsfähigkeit der Platten einerseits und der hohen Schicht andererseits bei der Isolierung von Anaëroben zu prüfen, ließen wir diese Verfahren unter sich in Konkurrenz treten. Unsere frühere Erfahrung wurde bestätigt: Der Methode von R. Burri in vereinfachter Form muß unbedingt der Vorrang zuerkannt werden; selbst gegenüber dem gewiß sehr praktischen und einfachen Plattenverfahren mit dem modifizierten Wrightschen Verschluß. Als Beweis dieser Tatsache erwähnen wir folgende Versuche:

1. Versuch: 1 g steril entnommene Wiesenerde wird mit 10 ccm sterilem Wasser in sterilem Tiegel zerrieben und mit Glasglocke bedeckt. Von dieser Erdaufschwemmung wird der Inhalt einer großen Oese in den üblichen drei Verdünnungen in Burrische Röhren mit Milchzuckeragar geimpft. Der Inhalt einer zweiten großen Oese wird auf die erstarrte Oberfläche des Milchzuckeragars von drei unserer soeben beschriebenen Platten und der Inhalt einer dritten großen Oese auf ebenso viele anaërobe Platten im Exsikkator, wie sie von Novy (94), Arens (1), Hammerl (50), Kamen (76), Rodella (125) angewendet werden, ausgestrichen.

(Siehe Tabelle p. 101.)

2. Versuch: Von derselben Erdaufschwemmung Verdünnung $^1/_{10}$, wird 1 ccm in sterilisiertes Wasser + Eiweiß (Anreicherungsverfahren Achalme-Passini) geimpft, anaërob verschlossen und zu 37° gestellt. Nach 6 Tagen ist das Eiweiß sehr weitgehend zersetzt. Die Kultur wird geöffnet. Es macht sich ein höchst unangenehmer Geruch bemerkbar.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Resultat.

Entwickelungs-zeit	Burrische Röhren	Platten mit modifiziertem anaëroben Verschluß nach Wright	Platten im Exsikkator
Nach 24 Stunden	Deutliches Wachstum und Gasbildung in A, später auch in B und C. Ueberimpfung der in der Tiefe der Schicht gelegenen Kolonieen in M' z' ag'-Stich.	—	—
Nach 4 Tagen	Schöne anaërobe Stiche. (Putrificus)	Schöne Kolonieen in a, Ueberimpfung in Stiche. b und c noch zurückgestellt.	—
Nach 8 „	—	2 Stiche aus a anaërob und 1 fak. anaërob (Coli), b und c zeigen Kolonieen. Nicht weiter verfolgt.	In der obersten Platte a noch keine Kolonieen zu sehen. b und c unkontrollierbar.
Nach 12 „	—	—	Exsiccator geöffnet. Auf a: 2 Kolonieen. b und c je 1 Kolonie. Nicht weiter verfolgt.

Im Mikroskop treten besonders häufig tetanusähnliche Formen auf (Bac. pseudotetanus Tavel (153).

Von dieser Kulturflüssigkeit wird pasteurisiertes (5 Minuten Siedetemperatur des Wassers) und nicht pasteurisiertes Material in ganz gleicher Weise wie beim ersten Versuch, nur statt einer großen, eine kleine Oese, bei den verschiedenen Kulturarten verimpft und wie vorher zu 37 ° gestellt.

(Siehe Tabelle p. 102, 103.)

Auf den ersten Blick ersehen wir aus diesen Versuchsreihen die Ueberlegenheit der Burrischen Methode für die Isolierung der Anaëroben. Schon nach 4, im günstigsten Falle schon nach 2 Tagen haben wir Putrificus resp. einen tetanusähnlichen Bacillus (Pseudotetanus) in Reinkultur isoliert. Ein so günstiges Resultat haben wir nur annähernd mit unserem Plattenverfahren, nie aber mit einer anderen Methode erreicht. Von den Platten im Exsikkator konnte jeweils nur die zu oberst liegende genau auf Wachstum kontrolliert werden, ein Mangel, der sich gegenüber der leichten Kontrollierbarkeit der Platten unseres Verfahrens ganz besonders fühlbar machte. Wir können jede unserer anaëroben Platten nach Belieben in ihrer Entwickelung beobachten, öffnen, mikroskopisch untersuchen, eventuell zu weiterer Kontrolle wieder anaërob verschließen und zu Bruttemperatur zurückstellen. Wenn dann auch der Fall eintritt, daß nachher durch den Kontakt mit Sauerstoff irgend ein luftliebender Organismus sich zu behaupten vermag, so hat dies nicht viel zu bedeuten, da man es ja jederzeit in der Hand hat, die Kolonieen mittelst des anaëroben Verschlusses in ihrer Entwickelung zu hemmen. Besonders leicht lassen sich unsere Platten auch konservieren. Man braucht nur den Pyrogallolpfropf zu ersetzen durch einen mit Karbolsäure oder Formalin getränkten hygroskopischen Wattepfropf und wie beim anaëroben Verschluß mit Kautschukstopfen abzuschließen. In ganz gleicher Weise kann man natürlich auch hohe Schichten in Burrischen Röhren konservieren.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Resultat.

Entwickelungszeit	Burrische Röhren		Platten mit modifiziertem anaërobem Verschluß nach Wright		Platten im Exsikkator 100 : 100 ccm alkalisches Pyrogallol	
	Past. Mat.	Nicht past. Mat.	Past. Material	Nicht past. Material	Past. Material	Nicht past. Material
Nach 12 Stunden	In allen 3 hohen Schichten anaërobes Wachstum. M'z'ag'-stichkult. angelegt.	In allen 3 hohen Schichten anaërobes Wachstum und Gasbildung. M'z'ag'-stichkult. angelegt.	—	In allen drei Platten Kolonieen. Manche M'z'ag'-stiche aus a. b und c. mikroskop. untersucht und dann wieder zur weiteren Beobachtung d. Entwickl. d. Kolonieen zurückgestellt.	—	In Platte a einige Kolonieen. b und c unkontrollierbar.
Nach 30 Stunden	—	Milchzuckeragarstiche zeigen anaërob. Wachstum. (Putrificus)	—	Milchzuckeragarstiche aus a zeigen anaërobes Wachstum. Isoliere den unbewegl. Buttersäurebacill. in Reinkult.	—	—
Nach 2 Tagen	Milchzuckeragarstiche zeigen anaërob. Wachstum. (Pseudotetanus)	—	In allen 3 Platten anaërob. Wachstum. Platte b besonders schön, daher unter Karbolverschluß als Demonstrationsmat. zurückgestellt. Aus a u. c Milchzuckeragarstiche angelegt.	Milchzuckeragarstiche aus Platten b und c.	In Platte a deutliches Wachstum. b und c unkontrollierb.	—
Nach 4 Tagen	—	—	Stiche zeigen anaërobes Wachstum. (Pseudotetanus).	Von 6 Stichen aus b und c zeigen 3 anaërobes Wachstum (Pseudotetanus) und 3 fakultativ anaërobes Wachstum. (Bact. coli)	—	—

Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Resultat.

Entwickelungszeit	Burrische Röhren		Platten mit modifiziertem anaërobem Verschluß nach Wright		Platten im Exsikkator 100 : 100 ccm alkalisches Pyrogallol	
	Past. Mat.	Nicht past. Mat.	Past. Material	Nicht past. Material	Past. Material	Nicht past. Material
Nach 10 Tagen	—	—	—	—	Geöffnet. Von jeder Platte drei M'z'ag'stichkulturen angelegt.	Geöffnet. Von jeder Platte drei M'z'ag'stichkulturen angelegt.
Nach 12 Tagen	—	—	—	—	a: 2 anaërobe Stiche (Putrificus), 1 ohne Wachstum. b: alle 3 anaërob (Putrificus) c: 1 anaërob, 2 fakultativ anaërob.	a: 1 anaërob (Putrificus), 2 ohne Wachstum. b: 1 anaërob, 1 fakultativ anaërob, 1 ohn. Wachst. c: 2 anaërobe (unbewegl. Buttersäurebac.), 1 ohne Wachstum.

Die **Exsikkator-Plattenverfahren** entbehren aller dieser Vorteile. Zudem sind sie kostspielig, insofern als unverhältnismäßige Mengen alkalischen Pyrogallols verbraucht werden müssen. Wir brauchen für eine gewöhnliche Reagenzglaskultur 2 ccm, für eine Plattenkultur 10 ccm alkalisches Pyrogallol. Ist das Volumen eines gewöhnlichen Reagenzglases = 25 ccm, dasjenige eines Exsikkators = 1500 ccm, so sind für letzteren um dasselbe Verhältnis 1 : 1 ccm alkalisches Pyrogallol wie für das Volumen des Reagenzglases anzuwenden, 60 ccm Kalilauge und 60 ccm Pyrogallussäure nötig, also 120 ccm alkalisches Pyrogallol für 3 Platten (Verdünnungen) im Exsikkator; dagegen nur 30 ccm für 3 Platten unter modifiziertem anaëroben Verschluß nach Wright. Wir haben der Sicherheit halber statt 120 ccm 200 ccm alkalisches Pyrogallol pro Exsikkator verwendet, d. h. für diese 3 Verdünnungen beinahe 7mal so viel alkalisches Pyrogallol verbraucht wie für die 3 Platten unter dem Wrightschen Verschluß.

C. Diskussion der Versuchsergebnisse.

Unsere Versuchsergebnisse überschauend, möchten wir nochmals auf die außerordentliche Einfachheit und Zweckmäßigkeit unserer Kulturverfahren hinweisen. Die Kultur in hoher Schicht — Methode von R. Burri in vereinfachter Form — halten wir vor allen für die natürlichste. Der in eine hohe Agarschicht geimpfte Mikroorganismus findet hier Lebensverhältnisse vor, die den natürlichen sehr annähernd entsprechen. In besonders günstiger Position befindet er sich gegenüber dem Sauerstoff, indem ihm Nährbezirke mit ungehindertem, teilweise und vollständig gehindertem Sauerstoffzutritt zur Verfügung stehen. Je nachdem er nun aërophilen oder aërophoben Charakter hat, wird er sich an der Oberfläche oder unter derselben entwickeln.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieses in der Kultur der hohen Schicht liegende vorzügliche Prinzip einerseits und die außerordentlich bequeme Handhabung in der Burrischen Röhre andererseits, lassen sie in unseren Augen als die ideale Methode zur Isolierung anaërober Bakterien erscheinen.

Das Aufgießen von sterilem Deckagar hat sich als vollkommen unnötig erwiesen. Das Verfahren ist dadurch nicht nur einfacher, sondern noch zweckmäßiger geworden. Durch den Deckagarpfropf wurde der Sauerstoffzutritt gehindert, es war daher die scharfe Trennung der Bakterien nach ihrem Verhalten zum Sauerstoff insofern verunmöglicht, als obligat und fakultativ Anaërobe sich zunächst nicht voneinander unterscheiden ließen, während die obligat Aëroben allerdings von Anfang an unterdrückt waren.

Der einzige Vorteil des Deckagarpfropfes, beim Arbeiten mit Thermophilen, wobei die Agarschicht bei 50—70° C aufbewahrt wird, als Verdunstungsschutz zu wirken, fällt auch dahin, indem eine gewöhnliche Agarschicht ohne Deckagar mit Kautschuk-, statt Wattepfropf verschlossen, sehr lange ohne irgendwelche Anzeichen der Verdunstung bei hohen Temperaturen gehalten werden kann.

Der von A. Rodella (124) erhobene Einwand gegen die Burrische Methode, daß dieselbe nur in einzelnen Fällen gute Erfolge liefere und nicht als allgemeine Methode für die Anaërobenforschung gelten könne, ist nicht gerechtfertigt. Die Behauptung (l. c. p. 604): „daß selbst die anaëroben Buttersäurebacillen aus einem Material, das sie gärend beherrschen, sehr häufig durch die Anwendung von festen Nährböden, sei es mittelst des Plattenverfahrens oder der Burrischen Röhrchen, nicht zu isolieren sind“, muß als vollkommen unrichtig bezeichnet werden. Eine große Oese eines Materials, das von den anaëroben Buttersäurebacillen „gärend beherrscht“ wird, in Milchzuckeragar hohe Schichten übergeimpft, setzt uns schon nach kürzester Frist in den Besitz schön isolierter Kolonieen, die nach Belieben weitergeimpft werden können. Selbstverständlich wird man in Fällen, wo eine Anreicherung des gesuchten Mikroorganismus mit Hilfe eines geeigneten Nährbodens, z. B. Milch, tatsächlich stattfindet oder vermutet werden kann, zuerst von dieser Gebrauch machen, bevor man mit der hohen Schicht arbeitet. Es liegt also auf der Hand, daß man, in der Absicht z. B. den unbeweglichen Buttersäurebacillus Schattenfroh und Grassberger aus Erde zu isolieren, diese nicht direkt in hohe Agarschichten, sondern — mit Rücksicht auf die in der modernen Bakteriologie allgemein üblichen Anreicherungsverfahren — zuerst in Milch impfen wird. Es sei z. B. 1 ccm einer Erdaufschwemmung, Verdünnung 1:1000, in 20 ccm steriler Milch geimpft, das Glas anaërob nach Wright verschlossen und zu 37° gestellt worden. Nach einigen Tagen stellt sich eine typische Buttersäuregärung ein. Impfen wir nun aus diesem Material, das vom unbeweglichen Buttersäurebacillus in vielen Fällen beinahe in Reinkultur „gärend beherrscht“ wird, eine große Oese in Burrische Röhren mit Milchzuckeragar, so haben wir, wenn nachher eine schön isolierte Kolonie in einen Milchzuckeragarstich geimpft wird, oft schon vor Ablauf einer Woche den unbeweglichen Buttersäurebacillus Schattenfroh und Grassberger in unanfechtbarer Reinkultur. Den von Rodella (124) erwähnten Nekrosebacillus und den nicht pathogenen Bacillus fusiformis, die ebenfalls in Burrischen Röhren nicht wachsen sollen, haben wir nicht zur Hand gehabt. Es scheint uns jedoch kaum zweifelhaft, daß diese Mikroorganismen nach vorausgegangener Anreicherung

Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

bei Verwendung eines geeigneten Nährbodens doch mittelst der Burrischen Methode zu isolieren wären. Uebrigens würden für den Fall, daß die Burrische Methode wider Erwarten Anaërobe nicht lieferte, voraussichtlich auch die verschiedenen komplizierten anaëroben Plattenverfahren nicht bessere Dienste leisten.

Ghon und Sachs (43) schreiben (l. c. p. 407): „Diese Methode (Schüttelkultur mit Verdünnungen) ist auch unserer Erfahrung nach als eine höchst wertvolle anzusehen und bei den Arbeiten mit den anaëroben Bakterien dürfte sie kaum zu entbehren sein. Die Vorteile, die diese Methode bietet, sind keine geringen und fallen bei der anaëroben Züchtung oft sehr in die Wagschale. Hervorzuheben wäre vor allem der Umstand, daß das zu verarbeitende Material die denkbar geringste Zeit mit der Luft in Berührung kommt. Für empfindliche anaërobe Arten ist dieser Umstand sicherlich nicht ohne Belang. Dadurch, daß die Methode völlige Anaërobiose ermöglicht, ist sie ferner als eine sichere anzusehen, gestattet beliebig lange Beobachtungszeit und die Möglichkeit, verschiedene Kolonieen zu verschiedenen Zeiten abzuimpfen. Dabei ist sie einfach und deshalb leicht und überall ausführbar."

Als Nachteile der Methode führen Ghon und Sachs die Schwierigkeit der unmittelbaren mikroskopischen Betrachtung der Kolonieen und die verunmöglichte isolierte Abimpfung derselben aus einer durch den Druck der entstandenen Gase zerrissenen Agarsäule an. Sie geben jedoch gleich zu, daß der letzterwähnte Uebelstand nur in dichtbesäten Kulturen störend hervortrete und ihm durch Herstellung einer größeren Anzahl von Verdünnungen vorzubeugen sei. Dem ersterwähnten Nachteile kann man nach Ghon und Sachs „teilweise" dadurch abhelfen, daß man nach dem Vorgange von R. Burri die Agarsäule in parallele Scheiben zerlegt und diese mikroskopiert.

Die Schwierigkeit der unmittelbaren mikroskopischen Betrachtung der Kolonieen ist dadurch nach unserer Ansicht nicht nur teilweise, sondern ganz aufgehoben. Eine kolonieenreiche oder -arme Agarsäule, die nach der Vorschrift von R. Burri, in Scheibchen zerschnitten, in einer sterilen Petri-Schale liegt, ermöglicht eine ebenso vollkommene mikroskopische Betrachtung und — in der weiteren Verarbeitung — Abimpfung der Kolonieen wie beim gewöhnlichen Plattenverfahren. Merkwürdigerweise bevorzugen Ghon und Sachs für die Abimpfung der Kolonieen das von Veillon (156) angegebene Verfahren, obwohl sie selbst zugeben, „daß beim Ausstechen einer Kolonie aus der Tiefe des Zuckeragars aus den höheren Schichten des Nährbodens Keime einer anderen Bakterienart, die noch keine sichtbaren Kolonieen gebildet hat, mitgenommen werden könnten, daher die erhaltene Kultur dann keine reine wäre". Es ist nun eben gerade ein Hauptvorteil des Burrischen Verfahrens, daß diese Verunreinigungen bei exaktem Arbeiten absolut ausgeschlossen sind. Dieser Umstand und die überaus bequeme mikroskopische Betrachtung der Kolonieen sind nach unserer Ansicht Vorzüge, die die Methode von R. Burri in vereinfachter Form, wie schon bemerkt, als das Ideal eines zweckmäßigen, einfachen und billigen Isolierungsverfahrens erscheinen lassen.

Für das Plattenverfahren, die zweite wichtige Methode der anaëroben Züchtung, verwenden Ghon und Sachs die bereits im historischen Teil erwähnte Kombination: Ersatz des Luftsauerstoffes in der Botkinschen Glocke durch elektrolytisch gewonnenen, mittelst Leitung über eine glühende Kupferspirale von den Sauerstoffverunreinigungen befreiten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wasserstoff und Verschluß der Glocke mit Pyrogallollösung und Paraffinöl nach der Vorschrift von Schattenfroh und Grassberger (145). Für das Prinzip der chemischen Absorption des Sauerstoffs können sich Ghon und Sachs nicht erwärmen; sie sagen (l. c. p. 408): „Abgesehen von den dabei angewendeten Apparaten mit ihren vielfach unsicheren Verschlüssen, kommt bei dieser Methode vor allem der Umstand in Betracht, daß die Absorption des Sauerstoffs immerhin längere Zeit erfordert (ca. 24 Stunden und mehr), wenn sie überhaupt völlig erfolgt."

Diese Uebelstände würden allerdings unser Plattenverfahren auch unmöglich machen, wenn sie tatsächlich existierten. Dies ist nun aber in Wirklichkeit nicht der Fall. Die Zweckmäßigkeit unseres Plattenverfahrens im allgemeinen haben wir in der vergleichenden Prüfung der Entwickelung von Anaëroben auf Platten einerseits und in hoher Schicht andererseits, vergl. p. 100, 101, 102 und 103 bereits demonstriert. Es ist daraus hervorgegangen, daß unser Plattenverfahren der Vollkommenheit der Burrischen Methode sehr nahe kommt.

Die Schnelligkeit der Absorption des Sauerstoffs bei unserem Plattenverfahren haben wir natürlich auch geprüft, indem wir, im Sinne des von Ghon und Sachs besonders empfohlenen Plattenstrichverfahrens, Bact. phosphoreum auf einer mit 10 ccm Kochsalzgelatine beschickten Platte ausstrichen, bei 9° C zu einem sehr intensiv leuchtenden Belag sich entwickeln ließen und die Platte dann unter anaëroben Verschluß (5:5) brachten. Nach 6 Stunden war jedes Leuchten verschwunden, trat aber sofort in vollster Intensität, von oben nach unten mit dem eindringenden Sauerstoff vorschreitend, wieder auf, wenn der Kautschukpfropf entfernt wurde. Diese Beobachtung legt das beste Zeugnis ab, speziell für die Zweckmäßigkeit des modifizierten anaëroben Verschlusses nach Wright, zugleich aber auch für unser Plattenverfahren überhaupt.

Es scheint auf den ersten Blick ein Widerspruch in der Tatsache zu liegen, daß die Sauerstoffabsorption durch den erwähnten anaëroben Verschluß genügt, um das intensive Leuchten der Kochsalz-Bouillonkulturen von Bact. phosphoreum je nach dem Alter der Kultur schon nach $^3/_4$—2 Stunden, der Striche auf Platten je nach der Höhe der Nährbodenschicht auf denselben nach $1^1/_2$—6 Stunden, der gewöhnlichen Striche im Reagenzglas jedoch erst nach 72 Stunden zum Verschwinden zu bringen. Dieser scheinbare Widerspruch klärt sich jedoch sofort auf, wenn man bedenkt, daß die Gasdiffusion in Flüssigkeiten viel schneller vor sich geht, als in festen Nährböden. Es ist also einleuchtend, daß der in der Bouillon vorhandene Sauerstoff viel schneller absorbiert sein wird, als der in der Gelatine befindliche. Ferner ist klar, daß bei einer hohen Schicht eines festen Nährbodens die Absorption des Sauerstoffs weniger rasch vor sich gehen wird, als bei einer niedrigen, bei gleichem Volumen. Dies läßt sich mit Hilfe der Leuchtbakterien, wie erwähnt, sehr schön zeigen.

Die Versuche wurden natürlich bei der Optimaltemperatur für die Leuchtbakterien (9—12°) ausgeführt. Würden die letzteren bei höherer Temperatur, z. B. 37°, auch wachsen, so ließe sich jedenfalls zeigen, daß das Leuchten unter anaërobem Verschluß noch viel schneller aufhört, resp. die Sauerstoffabsorption durch den Pyrogallolpfropf noch viel rascher vor sich geht.

Besonders schön kann man auch die Schnelligkeit der Sauerstoffabsorption durch den Pyrogallolpfropf in dem Raume, in dem die Platte liegt, demonstrieren. Es wird auf den Boden einer sterilen anaëroben

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Platte eine ganz dünne Schicht Kochsalzgelatine mit einem sterilen Pinsel ausgestrichen, so daß sie den Boden firnisartig bedeckt. Auf diese Schicht streicht man mittels sterilen Pinsels eine leuchtende Kochsalzbouillon aus. Nach 2 Tagen hat sich bei 9—12° C ein intensiv leuchtender Belag gebildet. Verschließt man nun diese Platte anaërob, so ist nach $1^1/_2$ Stunden jedes Leuchten verschwunden, mit anderen Worten: jede Sauerstoffspur absorbiert. Eine solche dünne Schicht ist aber zu vergleichen mit der Oberfläche einer mit 10 ccm beschickten Kochsalzgelatineplatte, auf die die Bakterien gestrichen werden. Diese würden sich also schon nach $1^1/_2$ Stunden (bei 9—12° C!) unter vollkommen sauerstofffreien Bedingungen befinden, wenn nicht die tieferen Nährbodenschichten die Rolle eines, seinen Vorrat nur langsam abgebenden Sauerstoffreservoirs spielen würden.

Diese Tatsache wird durch den Kulturversuch bestätigt. Die anaëroben Keime entwickeln sich auf unserer Platte sehr rasch und üppig, ohne irgend welches Anzeichen einer Ueberwucherung durch Aërobe. Aus diesem Grunde und wegen der überaus einfachen, raschen und sauberen Ausführung des Verfahrens dürfte unseren Platten eine Vorzugsstellung zukommen. Sie verdienen dieselbe besonders auch wegen der ermöglichten „individuellen“ Behandlung. Ghon und Sachs (43) empfinden den Nachteil der Unkontrollierbarkeit der in der Botkinschen Glocke aufbewahrten Platten. Sie schreiben (l. c. p. 411): „Die Größe der derzeit im Institut verwendeten Glocken (für 10 Schalen) bedingt es, daß man sich nur bei den obersten 2—3 Platten von einem eventuellen Wachstum durch direkte Besichtigung — ohne die Glocke zu öffnen — überzeugen kann. Durch Verwendung mehrerer Glocken an Stelle einer großen wäre es ermöglicht, von Platten, die mit demselben Materiale beschickt wurden, nach verschiedenen Zeiten abzuimpfen. Besser aber noch wäre es, die derzeit in Verwendung stehende Glockenform durch ein flaches Modell mit demselben flüssigen Verschlusse zu ersetzen, welches die Möglichkeit böte, eine gewisse Anzahl von Platten nicht übereinander, sondern nebeneinander aufstellen zu können.“ Wir halten letzteren Vorschlag für weniger praktisch als ersteren. Auch dieser wäre jedoch in der von Ghon und Sachs empfohlenen Form kaum allen berechtigten Forderungen entsprechend. Das ganze Verfahren würde zu umständlich und zu kostspielig. Dies trifft nun auf unser Plattenverfahren, wie man sich auf den ersten Blick überzeugt, nicht zu, oder doch gewiß nicht in dem Grade, wie bei anderen, keineswegs bessere Dienste leistenden Verfahren. Unsere Platten sind auch dadurch vorteilhaft, daß das auf den erstarrten Nährboden gestrichene anaërobe Bakteriengemisch dem Einfluß des Sauerstoffs so kurze Zeit ausgesetzt bleibt, daß dieser auch für die allerempfindlichsten Anaëroben nach den heutigen Erfahrungen nicht allzu schädlich sein dürfte. Die Beobachtung, die auch Ghon und Sachs besonders hervorheben, daß die Entwickelung der einzelnen anaëroben Bakterien zu verschiedener Zeit eintritt, ist bei unserem Plattenverfahren ganz besonders berücksichtigt. „Oeffnet man“, wie Ghon und Sachs schreiben, „die Botkinsche Glocke früher, weil man das Zugrundegehen bereits zur Entwickelung gelangter Keime fürchtet, und stehen einem keine anderen Platten von demselben Material zur Verfügung, so müssen solche langsam wachsende Arten der Isolierung entgehen. Derselbe Mißerfolg könnte eintreten, wenn der Abschluß der Glocke aus irgend einem Grunde früher undicht wird, oder wenn es sich um Keime handelte, die besonders lange Zeit zum Wachstum brauchten.“

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der ausgezeichnete Abschluß unserer Platte einerseits und die bequeme Beobachtung der Entwickelung der Keime in jeder Platte andererseits bürgen dafür, daß solche Mißerfolge bei unserem Plattenverfahren vollständig ausgeschlossen sind. Trotzdem benutzen wir unsere Plattenmethode niemals allein bei der Isolierung der Anaëroben, sondern lediglich als Ergänzung zu der Methode von R. Burri in vereinfachter Form. Die Anwendung beider Kulturarten, in hoher Schicht sowohl als auch in Platten halten wir in voller Uebereinstimmung mit Ghon und Sachs für weitaus am geeignetsten zur leichten und sicheren Isolierung anaërober Keime. Dieses Problem dürfte mit den Methoden von R. Burri und J. H. Wright in zweckmäßigster Form als gelöst anzusehen sein. Damit soll — ganz im Sinne von Ghon und Sachs — nicht gesagt sein, daß man bei Verwendung dieser Verfahren unter allen Umständen und in jedem Falle zum Ziele gelangen müsse. Es sind unter den aëroben Bakterien schwer kultivierbare und bislang überhaupt unkultivierbare Arten bekannt, was die Annahme rechtfertigt, daß auch unter den Anaëroben solche existieren. „Außerdem", schreiben Ghon und Sachs, „wissen wir von den aëroben Bakterienarten her, daß nicht immer alles angeht, was ausgesät wird und daß wir dafür nicht immer eine befriedigende Erklärung geben können." Es ist klar, daß man sich diese Erwägungen bei der anaëroben Züchtung vergegenwärtigen muß. Auch hat man zu bedenken, daß die Biologie der Anaëroben überhaupt noch bei weitem nicht erschöpfend erforscht ist. Daher ist es sehr angezeigt, die komplizierten anaëroben Lebensverhältnisse nach Möglichkeit zu studieren. Wir hoffen im zweiten Teil dieser Arbeit einen kleinen Beitrag zur Aufklärung in dieser Richtung zu leisten. Bevor wir jedoch dazu übergehen, möchten wir zum Schlusse die Vorteile der eben diskutierten, von uns ausschließlich und mit bestem Erfolg zur Isolierung der obligat anaëroben Bakterien verwendeten Verfahren nochmals kurz hervorheben.

Die Methode der hohen Schicht von R. Burri in vereinfachter Form zeichnet sich aus:

1) durch die natürlichsten Kulturbedingungen, insbesondere in Bezug auf den Sauerstoffzutritt;

2) durch die außerordentlich einfache Handhabung und vorteilhafte Verwendbarkeit für sich allein, wie in Verbindung mit Anreicherungsverfahren, wobei in jedem Falle das zu verarbeitende Material die denkbar geringste Zeit mit der Luft in Berührung kommt;

3) durch die unbeschränkt ermöglichte makro- und mikroskopische Beobachtung der Kolonieen;

4) durch die bei genauer Befolgung der Vorschrift absolut einwandfreie, wie bei Platten ausführbare, vor Verunreinigung gesicherte Ab- und Ueberimpfung der Kolonieen.

Das von uns empfohlene anaërobe Plattenverfahren zeichnet sich aus:

1) durch die denkbar einfachste Ausführung des ganzen Verfahrens, vor allem durch den einfachen, zweckmäßigen Verschluß;

2) durch die ihm eigene rasche und, wie besonders mit Hilfe der Leuchtbakterien gezeigt wurde, vollkommene Sauerstoffabsorption im Kulturraum;

3) durch die überaus leichte allseitige Kontrolle des Wachstums der Kolonieen;

4) durch die unbeschränkt ermöglichte individuelle Behandlung jeder einzelnen Platte.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Teil: Zur Lehre von der Anaërobiose.

A. Historischer Teil.

Die hochinteressante Entdeckung der Anaërobiose verdanken wir L. Pasteur (107). Er veröffentlichte dieselbe in der Sitzung der Pariser Akademie, am 25. Februar 1861 in einer Mitteilung, betitelt: „Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations". Seine Doppelthese, die er hier aufstellt, lautet:

1) Le ferment butyrique est un infusoire.
2) Cet infusoire vit sans gaz oxygène libre.

Er sagt von diesen überraschenden Tatsachen: „L'existence d'infusoires possédant le caractère des ferments est déjà un fait qui semble bien digne d'attention; mais une particularité singulière qui l'accompagne, c'est que les animalcules infusoires vivent et se multiplient à l'infini sans qu'il soit nécessaire de leur fournir la plus petite quantité d'air ou d'oxygène libre." Die nächste Folge nach dem Bekanntwerden dieser höchst merkwürdigen Erscheinung war die Einteilung der Mikroorganismen in zwei große Klassen, von denen die eine alle Kleinlebewesen umfaßt, die den Sauerstoff für ihre Existenz absolut benötigen, während die andere von den eben entdeckten Mikroorganismen, die ohne freien Sauerstoff sich fortlaufend zu entwickeln vermögen, dargestellt wird. Pasteur (106) schreibt in einer Fußnote (l. c. p. 1192): „Je propose avec toute sorte de scrupules ces mots nouveaux aérobies et anaérobies, pour indiquer l'existence de deux classes d'êtres inférieurs, le uns incapables de vivre en dehors de la présence du gaz oxygène libre, les autres pouvant se multiplier à l'infini en dehors du contact de ce gaz."

Diese von Pasteur vorgeschlagene Einteilung der Mikroorganismen in Aërobien und Anaërobien, bezw. die Existenz der Anaërobiose überhaupt, wurde vielfach angefochten. Wir haben bereits p. 19 darauf hingewiesen, daß die Zweifel bezüglich der Möglichkeit des Lebens unter absolut anaëroben Verhältnissen durch die Versuchsresultate von Lachowicz und Nencki (82) verschwinden mußten. Es stellte sich jedoch im Laufe der Zeit heraus, daß die Trennung zwischen aërober und anaërober Lebensweise doch nur insofern existierte, als diese Lebensformen entgegengesetzte Endglieder derselben Reihe darstellten. Es wurden Mikroorganismen nachgewiesen, die unter aëroben Verhältnissen sich gleich gut entwickelten wie unter anaëroben Bedingungen. Diese Lebewesen repräsentieren also in ihrem Sauerstoffbedürfnis gewissermaßen ein Mittelding zwischen Aëroben und Anaëroben. Liborius (79) unterscheidet daher je nach dem Sauerstoftbedürfnis drei Klassen unter den Bakterien:

1) obligate Anaërobien,
2) obligate Aërobien,
3) fakultative Anaërobien.

Von höchstem Interesse ist die Klasse der fakultativen Anaërobien, sowohl in ihrer Stellung zu den obligaten Aërobien, wie auch zu den obligaten Anaërobien. Es ist natürlich naheliegend, über den Zusammenhang der einzelnen Gruppen, resp. über die Entstehung der einen aus der anderen Vermutungen anzustellen. Von Frankland (37) ist z. B. die Ansicht vertreten worden, die aërobe Wachstumserscheinung sei als die normale anzunehmen. Durch allmähliche Anpassung an sauerstofffreie Medien würden aber „ursprünglich aërobe Organismen so modi-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fiziert werden, daß sie für immer längere Zeiträume den Mangel an Oxygen ertragen, und zuletzt sind einige Formen so stark abgeändert worden, daß sie bei vollständiger Abwesenheit des Sauerstoffs zu leben vermögen, mit anderen Worten, sie sind obligat anaërob geworden".

Den gegenteiligen Standpunkt vertritt Phipson (116), indem er glaubt, daß aus ursprünglich obligat anaëroben Lebewesen durch Anpassung an sauerstoffhaltige Medien allmählich obligate Aërobien hervorgegangen seien.

Beide Ansichten scheinen uns viel unwahrscheinlicher, als die von R. Burri (4) aufgestellte Hypothese, wonach als ursprünglicher Typus der fakultativ anaërobe erklärt wird, „aus dem sich durch einseitige Betätigung der Sauerstoffatmung der obligat aërobe, durch einseitige Betätigung der Spaltungsatmung der obligat anaërobe entwickelt hat".

Arthur Meyer und Wund (160) schlagen in neuester Zeit vor, die Begriffe: obligat aërob, fakultativ anaërob und obligat anaërob nach Liborius in der Wissenschaft ganz fallen zu lassen, da die durch diese Definitionen gegebenen Abgrenzungen zu unscharf seien. Pfeffer (117) macht (l. c. p. 522) zwar auch darauf aufmerksam, daß keine scharfen Grenzen bestehen, „wie sich schon daraus ergibt, daß ein fakultativer Anaërobe bei bestimmter Ernährung nur aërobiotisch, bei anderer Ernährung auch anaërobiotisch fortkommt, daß es ferner gelungen ist, einige Bakterien, die bisher als obligate Anaëroben galten, unter anderen Bedingungen auch bei Zutritt von Sauerstoff zu kultivieren. Zudem gibt es Organismen (Sproßpilze, Bakterien), die man als temporäre Anaërobe bezeichnen kann, weil sie nach vorausgegangenem Sauerstoffgenuß einige Zeit anaërobiotisch wachsen und sich vermehren." Pfeffer hält aber trotzdem (l. c. p. 537) an der Liboriusschen Einteilung fest. Als obligate Anaëroben bezeichnet er diejenigen „Wesen, denen schon bei sehr geringer Partiärpressung des Sauerstoffs eine erfolgreiche Tätigkeit unmöglich ist". Beijerinck (6) bemerkt in einer Fußnote zur Beschreibung des Anaërobientypus, den er anläßlich seiner Studien über Atmungsfiguren beweglicher Bakterien charakterisiert: „Durch lange fortgesetzte Studien über das anaërobe Butylferment bin ich mehr und mehr zur Ueberzeugung gekommen, daß auch die obligat-Anaërobien unter natürlichen Lebensbedingungen freien Sauerstoff bedürfen zur bleibenden Unterhaltung ihres Lebens. Eine Spur Sauerstoff ist aber zureichend für eine lange Reihe von Generationen". Er schreibt daher später in einem Aufsatz (7):

„Il n'y a donc pas suffisamment de raison pour classer les bactéries mobiles en trois types d'après leurs rapports avec l'oxygène libre comme je l'avais fait antérieurement. Il suffit d'en considérer deux. Il me parait aussi que les dénominations dont j'avais antérieurement fait usage ne sont pas très bien applicables et qu'il vaut mieux nommer aérophiles tous les organismes qui recherchent ou préfèrent la tension maxima d'oxygène et microaérophiles ceux qui réclament une faible tension de ce gaz. A ce dernier groupe appartiennent les anaérobies obligatoires." Später präzisiert er (8) in der Abhandlung, betitelt: „Durch Mikroben hervorgebrachte Reduktionserscheinungen" seinen Standpunkt noch genauer, indem er schreibt: „Il y a lieu, je pense, de faire remarquer ici que le double rôle si nettement joué par l'oxygène dans les phénomènes de réduction produits par les microbes aérobies, se retrouve d'une façon correspondante chez les microbes que l'on qualifie d'anaérobies. Là aussi on peut faire voir dans tous les cas connus jus-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

qu'ici, qu'à côté de la consommation „intramoléculaire" d'oxygène, comme source d'énergie pour l'oxydation de la substance organique, à laquelle peut servir par exemple l'oxygène combiné fournie par la réduction des sulfates (oxygène d'oxydation), une quantité très petite d'oxygène libre (oxygène d'excitation) doit toujours être fournie par le milieu ambiant. Il est vrai, que cette dernière quantité est très petite et ne peut pas être décelée par la voie chimique, mais à la longue l'absence complète d'oxygène libre arrête absolument la croissance et toute autre manifestation vitale, n'importe dans quelle classe d'organismes, donc aussi les processus de réduction, même chez les anaérobies obligatoires. On voit par là qu'il n'existe pas d'organismes anaérobies dans le sens strict du mot; voilà pourquoi j'ai déjà proposé à d'autres occasions de caractériser ce besoin, faible mais toujours existant, d'oxygène libre chez ces microbes par le terme „Microaërophilie".

Cl. Fermi hat seine Einteilung der Mikroorganismen in Oxygenophile, Paraoxygenophobe und Oxygenophobe aufgegeben und kommt am Schlusse seiner in Verbindung mit E. Bassu (39) ausgeführten Untersuchungen über Anaërobiose zum gleichen Resultat wie Beijerinck. Fermi und Bassu schreiben (l. c. p. 378): „Da wir nun gesehen haben, daß die Anaëroben weniger gut in einem gänzlich an Sauerstoff freien Mittel gedeihen, so folgt, daß sie zu ihrer Entwickelung immer einer gewissen Menge freien Sauerstoffs bedürfen." Sie sagen weiter, es sei klar, daß die Gegenwart des Sauerstoffs zum Leben der Anaëroben notwendig und daß die Anaërobiose nur eine scheinbare Ausnahme im Gesetze der Natur sei. Die Anaëroben sind daher nach Meinung der letztgenannten Autoren Mikroorganismen, „deren Leben im Verhältnis zu einem Optimum der Minimalspannung des Sauerstoffs sich befindet."

Auch Alfred Fischer (33) hat sich der Auffassung Beijerincks angeschlossen. Er schreibt (l. c. p. 135) von den obligaten Anaëroben: „Sie sind aber nicht absolut aërophob, sondern nur im äußersten Grade mikroaërophil. Nicht die beiden Gruppen der aëroben und der anaëroben Bakterien hat man zu unterscheiden, sondern die der orthoaërophilen (aëroben) und die der mikroaërophilen".

Chudiakow (24) hat ebenfalls die Ueberzeugung, daß die obligat anaëroben Organismen sich nur innerhalb bestimmter Grenzen der Sauerstoffpressung entwickeln. Rothert sagt im Referat über die Arbeit von Chudiakow (l. c. p. 394): „Andererseits existiert eine gewisse niedrige Partiärpressung, welche sowohl die Entwickelung der Aëroben, als auch diejenige der obligaten Anaëroben zuläßt." Nachher schreibt Rothert: „Wenn indes Verfasser (Chudiakow) daraufhin behauptet, daß zwischen obligaten Aëroben und obligaten Anaëroben keine wesentliche, sondern nur eine quantitative Differenz besteht, so ist das viel zu weit gegangen."

Diese „quantitative Differenz" würde nach Beijerinck (8) einfach darin bestehen, daß die Aëroben viel mehr freien „oxygène d'excitation" bedürften, als die obligat Anaëroben, die nur eine sehr kleine auf chemischem Wege nicht nachweisbare Menge freien Reizsauerstoff nötig hätten. Beijerinck (8) macht ausdrücklich darauf aufmerksam, indem er schreibt (l. c. p. 157): „Les aérobies ont besoin de grandes quantités de cet „oxygène d'excitation" tandis que les anaérobies se contentent de peu. Il n'existe pas d'anaérobies dans le sens strict du mot, il vaut donc mieux parler de „microaérophiles". Mais pratiquement il est recomman-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dable de continuer à se servir du terme „Anaérobies" pour toutes les espèces qui ne se développent pas à l'air sous la pression ordinaire, et ne peuvent par là pas être obtenues en cultures sur plaques aérées." Omelianski (98) stellt sich nicht auf den Standpunkt Beijerincks, sondern hält an der von Pasteur, resp. Liborius eingeführten Einteilung der Mikroorganismen fest. Er schreibt: „Ganz abgesehen von den Nachteilen, welche die Abänderung einer feststehenden und allgemein angenommenen Terminologie mit sich bringt, ist dieser (der Beijerinck sche) Vorschlag auch aus dem Grunde wohl kaum als zutreffend anzusehen, als ja das Bedürfnis nach einer derartigen Aenderung noch gar nicht gereift ist. Um die anaëroben Bakterien als mikroaërophile Organismen anzusehen, müßte man annehmen, daß als physiologisch normaler Zustand für sie das Leben bei niedrigem Sauerstoffdruck und nicht unter Bedingungen strenger Anaërobiose zu gelten hat; dieses ist jedoch weder durch die verschiedene Auslegung zulassenden Ergebnisse der Versuche Beijerincks, noch auch durch die späteren Versuche Chudiakows erwiesen worden. Von dem Befunde, daß das Leben der anaëroben Bakterien bei geringem Sauerstoffgehalte der Luft noch möglich ist, ist es noch sehr weit bis zu der Annahme, daß eben diese Verhältnisse die für sie physiologisch normalen sind und daß eine vollständige Anaërobiose nicht besser für ihre Existenzbedingung passe. Es ist also nicht einzusehen, weshalb wir die allgemein übliche Terminologie fallen lassen sollten." Omelianski versteht unter Anaëroben diejenigen „Mikroben, welche ganz ohne freien Sauerstoff normal leben und sich entwickeln können, indem sie sich die ihnen nötige Betriebsenergie durch exothermische Zersetzungsreaktionen verschaffen."

In übereinstimmendem Sinne spricht sich in neuester Zeit R. Burri (4) in These 6 aus: „Die von Beijerinck geforderte und von Alfred Fischer und Anderen angenommene Einteilung der Organismen in aërophile und mikroaërophile deckt sich nicht mit der Wirklichkeit. Nicht der Umstand, ob ein Organismus bei vollem oder nur bei sehr beschränktem Sauerstoffgenuß sich entwickeln kann, kennzeichnet sein Verhältnis zu diesem Elemente, vielmehr ist es die Frage nach der Notwendigkeit, Entbehrlichkeit oder Schädlichkeit des letzteren, welche den Kern der Sache treffen dürfte. In diesem Sinne müssen aber die üblichen Ausdrücke obligat aërob, fakultativ anaërob und obligat anaërob als durchaus zweckmäßig bezeichnet werden."

B. Experimenteller Teil.

Vorbemerkungen: Gedrängte Angaben über Züchtungsmethoden, Herkunft und Art der benutzten Organismen.

Zur Isolierung der obligat anaëroben Bakterien haben wir uns in weitgehendstem Maße der Methoden von R. Burri und J. H. Wright bedient. Die Vollkommenheit dieser Arbeitsverfahren, eventuell in Verbindung mit Anreicherungsmethoden (Bodenextrakt, Eiweiß, Milch) dürfte, wie aus dem bisher Erwähnten hervorgegangen sein wird, über jedem Zweifel stehen.

Die für unsere Versuche benutzten obligat anaëroben Bakterien sind folgende:

1) Bacillus putrificus coli Bienstock,

2) unbeweglicher Buttersäurebacillus Schattenfroh und Grassberger,

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) beweglicher Buttersäurebacillus, Schattenfroh und Grassberger,

4) Bacillus tetani Nicolaier,

5) „hyperanaërobes“ Bakterium aus Bienen-„Sauerbrut“.

No. 1 und 2 isolierten wir in verschiedenen Stämmen aus Acker-, Wiesen- und Gartenerde. Dabei ist uns besonders die große Häufigkeit des Bacillus putrificus in diesen Medien aufgefallen. So isolierten wir diesen Organismus z. B. mit Hilfe des von Löhnis (83) (l. c. p. 461) vorgeschlagenen Bodenextraktes, den wir mit Hinzufügung von gekochtem Hühnereiweiß als Anreicherungsmedium benutzten, wiederholt aus der Verdünnung 1:1000000 von 1 g Gartenerde. No. 3 stammt aus Gartenerde. Die Isolierung geschah durch Anreicherung mittelst Milch und nachfolgender Ueberimpfung einer großen Oese von pasteurisiertem und nicht pasteurisiertem Milchserum in Burrische Röhren mit üblicher Weiterbehandlung. No. 4 verdanken wir der Freundlichkeit des Herrn Prof. Dr. Silberschmidt, Vorstand der bakteriologischen Abteilung des hygienischen Instituts der Universität Zürich. No. 5 wurde von Herrn Prof. Dr. R. Burri gelegentlich seiner Untersuchungen über die bei den Krankheiten der Bienenlarven regelmäßig auftretenden Bakterien isoliert [1]).

1. Nachprüfung der Versuche von Fermi und Bassu.

In der zweiten Mitteilung ihrer Untersuchungen über Anaërobiose beschreiben Fermi und Bassu (39) (l. c. p. 139) eine kombinierte Methode, die bezweckt, den Sauerstoff durch Aufkochen möglichst aus dem Nährboden zu vertreiben und die Kultur gegen zudringenden Sauerstoff vollkommen abzuschließen. Sie suchen dies folgendermaßen zu erreichen: Das (2-proz.) glykosierte, mit einer Paraffinschicht von $^1/_2$ ccm bedeckte Substrat wird während längerer Zeit in Vaselin bei 105° C gekocht, sodann schnell abgekühlt und durch das noch nicht fest gewordene Paraffin geimpft. Hierauf wird so viel Paraffin zugegeben, bis eine Schutzschicht von 3 ccm erreicht ist. Auf diese wird Kali-Pyrogallollösung bis 2 cm vom Rande der Eprouvette eingefüllt und letztere mit Paraffin abgeschlossen. Sodann wird die Eprouvette umgekehrt in einen mit Oel gefüllten Cylinder gestellt. Mit dieser „neuen Methode“ wollen Fermi und Bassu ein Verfahren entdeckt haben, das weitgehendste Anaërobiose gewährleistet.

Bacillus tetani, Bacillus oedematis maligni und Bacillus anthracis symptomatici sollen unter diesen Umständen bedeutend weniger intensiv wachsen, als z. B. in ausgekochtem Agar ohne irgend welchen Verschluß. Daher kommen die beiden Autoren zu dem Resultat, „daß die Entwickelung der Anaëroben kräftiger ist, sobald Spuren von freiem Sauerstoff sich im Substrat befinden und daß sie mit dem Abnehmen des Sauerstoffs nach und nach an Intensität abnimmt.“ Fermi und Bassu schließen sich also der im historischen Teil erörterten Auffassung Beijerincks an. Sie wollen in der Unentbehrlichkeit des Sauerstoffs für alles Leben ein allgemeingültiges physiologisches Gesetz erblicken, dem auch die Anaëroben unterworfen seien.

1) Der Organismus wurde vorläufig als Hyperanaërober bezeichnet, weil er in Stichkulturen gewöhnlich schon in einer Entfernung von 2 cm von der Agaroberfläche nicht mehr wächst, während die bekannten sogen. strengen Anaëroben immer höher, gewöhnlich bis 1 cm und nachträglich meist bis dicht unter die Oberfläche des Nährbodens wachsen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben das eben erwähnte Verfahren der beiden Autoren geprüft, können ihren Befund jedoch nicht bestätigen. Wir konstatierten wiederholt, daß Bacillus tetani in $^{1}/_{4}$ Stunde lang in Kochsalzlösung ausgekochtem und genau nach den Angaben von Fermi und Bassu verschlossenem 2-proz. Dextroseagar keine Abnahme der Wachstumsintensität erkennen ließ und fanden dieses Resultat bestätigt, als wir den Organismus in ebenso behandelten Agar säten und nach Wright anaërob verschlossen. In beiden Fällen trat üppiges, entsprechend der intensiven Sauerstoffabsorption durch die ganze Agarschicht gehendes Wachstum auf. Wenn eine Verminderung der Wachstumsintensität bei gänzlichem Sauerstoffmangel tatsächlich stattfinden würde, so könnte man diese Erscheinung bei der von uns angegebenen Versuchsanordnung: Auskochen des Agars und verschließen mit Pyrogallolpfropf nach Wright jedenfalls noch eher beobachten, als bei dem Verfahren von Fermi und Bassu. Wir haben das letztere auch für flüssige Nährböden benutzt. Längere Zeit ausgekochte Dextrosebouillon wurde mit Putrificussporen geimpft, nach Angabe von Fermi und Bassu überschichtet und neben unausgekochten und geimpften Dextrosebouillonkulturen mit gewöhnlichem anaëroben Verschluß gleiche Zeit bei 37° belassen. Es zeigte sich auch bei diesem Versuch absolut keine Wachstumsbehinderung durch die von Fermi und Bassu angegebene weitgehende Anaërobiose. Die charakteristische starke Trübung der Dextrosebouillon durch Putrificus trat in beiden Versuchsreihen gleichzeitig auf.

Es haftet diesem Ueberschichtungsverfahren von Fermi und Bassu neben der verunmöglichten Abimpfung der Kolonieen und den wegen der Oelimmersion nicht zu umgehenden schmierigen Manipulationen, besonders ein prinzipieller Fehler an, den wir anläßlich der Nachprüfung der Beijerinckschen Versuche über den Nachweis geringster Sauerstoffspuren durch Leuchtbakterien fanden. Wir hatten die Absicht zu zeigen, daß ein in einem Paraffinklötzchen eingeschlossenes, annähernd bestimmtes, geringstes Quantum Luft eine anaërob verschlossene Leuchtbakterienkultur wieder zum Leuchten zu bringen im stande sei, wenn sein Sauerstoff durch Schmelzen des Paraffins mit der Kultur in Kontakt kommt. Dabei machten wir jedoch die überraschende Beobachtung, daß der Paraffinwürfel selbst sehr deutlich leuchtet in einer Kultur, die, nach den Kontrollkulturen (ohne Paraffinwürfel) zu schließen, vollkommen sauerstofffrei war. Es schien, als ob das Paraffin locker gebundenen Sauerstoff abgeben könne und dadurch das Leuchten hervorgerufen werde. Es wurden nun sofort Kontrollversuche mit Paraffin gemacht und andere Substanzen (Kautschuk, Glas, Blei) auf diese Eigenschaft mittels der Leuchtbakterienmethode geprüft. Die Beobachtung bestätigte sich, insofern als sterile große und kleine Paraffinstücke und Kautschukstopfen in vollkommen entleuchteten Kulturen sehr deutliches Leuchten erkennen ließen, während dies bei Glasstäbchen und Bleiwürfelchen nicht der Fall war. Wir erweiterten dann die Versuche dahin, daß wir nachwiesen, daß dieses „Nachleuchten“ von Paraffinstücken auch bei Verwendung ganz kleiner Quantitäten auftritt. Es werden zu diesem Zwecke sterile Glasstäbe an einem Ende mehr oder weniger tief in flüssiges Paraffin getaucht, welches man erstarren läßt. Den nicht mit Paraffin bedeckten, weitaus größeren Teil des Stabes bestreicht man mit Glycerin, um ihn leichter durch einen einfach durchbohrten Kautschukstopfen stoßen zu können. Sodann durchlöchert man mit möglichster Vermeidung der Infektion den sterilen, nicht hygroskopischen Wattepfropf des anaëroben Verschlusses, läßt den Glasstab hindurch-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gehen und setzt ihn nun, nachdem man das obere Ende durch den Kautschukstopfen geschoben hat, so in ein Reagenzglas mit intensiv leuchtender Kochsalzbouillonkultur, daß der durchbohrte Wattestopfen unmittelbar über dem Paraffinkäppchen sitzt, dieses aber keinesfalls die Kulturflüssigkeit berührt. Jetzt stößt man zwischen den sterilen Wattepfropf und den Kautschukstopfen einige Bäuschchen hygroskopischer Watte, so daß eine Watteschicht entsteht, die dem Pyrogallolpfropf des gewöhnlichen anaëroben Verschlusses nach Wright entspricht. In diese gießt man nun die übliche Quantität alkalisches Pyrogallol (1:1 ccm) und verschließt nun sofort mit dem Kautschukstopfen immer mit der Vorsicht, daß das an der Spitze des Glasstabes befindliche Paraffinkäppchen nicht in Berührung mit der leuchtenden Kultur kommt. Ist alles in vorgeschriebener Weise ausgeführt, so ist nach 2 Stunden jedes Leuchten verschwunden und es kann nun die am Ende des Glasstabes befindliche kleine Menge Paraffin durch vorsichtigen Druck auf den Glasstab in die entleuchtete Kultur gestoßen werden. Nicht momentan, aber nach wenigen Sekunden sieht man eine der Länge des am Glasstab befindlichen Paraffinmantels entsprechende Figur längere Zeit intensiv leuchten.

Wir finden hierfür keine andere Erklärung, als daß die in der kleinen Paraffinmenge gespeicherten winzigen Sauerstoffspuren abgegeben werden und den Bakterien dadurch das Leuchten ermöglichen. Diese Erklärung dürfte um so eher berechtigt sein, als nach unseren Beobachtungen ein Glasstab allein, ohne Paraffinüberzug unter diesen Umständen kein Leuchten verursacht, während das Leuchten bei Anwesenheit von wenig Paraffin, auch wenn dieses vorher zum Zwecke der vollständigen Austreibung des Sauerstoffs auf 200° erhitzt und ausgekocht wurde, doch unverkennbar auftritt.

Diese Beobachtungen wurden im Dunkelzimmer des Laboratoriums, nachts, mit vollständig ausgeruhten Augen gemacht. Sie beweisen, daß das Paraffin, auch das flüssige, wie wir später noch zeigen werden, als sauerstoffdurchlässig und geradezu als ein Sauerstoffreservoir aufzufassen ist. Es ist daher durchaus unzulässig, bei Methoden, wo es, wie z. B. bei dem Ueberschichtungsverfahren von Fermi und Bassu, darauf ankommt, die letzten Sauerstoffspuren aus dem Nährsubstrat zu entfernen, letzterem Paraffin direkt aufzugießen. Es kann bei den Versuchen dieser Autoren mit ihrem Ueberschichtungsverfahren von sehr weitgehender Anaërobiose keine Rede sein, und ihre Behauptung, „daß die Entwickelung der Anaëroben mit dem Abnehmen des Sauerstoffs nach und nach an Intensität abnimmt“, muß vorläufig als unerwiesen stehen bleiben, weil die beigebrachten Experimente jeder Beweiskraft entbehren. Wenn mit diesem unserem Schlusse die faktischen Beobachtungen der genannten Autoren im Widerspruch zu stehen scheinen, so darf andererseits darauf hingewiesen werden, daß unsere eigenen bisherigen Versuche und die von anderer Seite bei Einhaltung möglichst vollständig anaërober Bedingungen gemachten Erfahrungen eine Empfindlichkeit der betreffenden Bakterien gegen weitgehenden Sauerstoffausschluß nicht haben erkennen lassen. Es drängt sich daher die Vermutung auf, ob die auffallenden Befunde von Fermi und Bassu vielleicht in der besonderen Versuchsanordnung begründet sind, vielleicht derart, daß das alkalische Pyrogallol mit Umgehung des sich bekanntlich kontrahierenden Paraffinpfropfs auf kapillarem Wege mit dem Nährboden in Kontakt kommen und dadurch eine desinfizierende Wirkung ausüben konnte. (Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Erforschung des Bakterienlichtes.

Von **B. Issatschenko,** St. Petersburg.

In meinem kurzen Bericht „Quelques expériences avec la lumière bactérienne“[1]) habe ich mitgeteilt, daß es mir gelungen ist, Chlorophyllbildung sogar bei so schwacher Beleuchtung wie der des Bakterienlichtes zu beobachten. Darin widersprechen meine Beobachtungen den Ergebnissen von Molisch[2]), worauf ich in meiner Arbeit auch hingewiesen habe.

In letzter Zeit bin ich fast gleichzeitig mit den Arbeiten: „Leuchtende Pflanzen“, von Prof. Molisch, „Ueber den Einfluß verunreinigter Luft auf Heliotropismus und Geotropismus“, von Dr. Oswald Richter, und mit dem 25. Kap. „Photogene Bakterien“ von Prof. Molisch, im Handbuch der Technischen Mykologie, Bd. I, 1907, bekannt geworden. — Dieser Umstand nötigt mich, mit einer genaueren Beschreibung meiner Beobachtungen vorzugehen, um zu beweisen, daß in meinen Untersuchungen, wie ich glaube, keine Versuchsfehler, wie H. Molisch schreibt, gewesen sind.

Mir scheint, daß der Hauptgrund in den widersprechenden Ergebnissen nicht so sehr in der Stärke des Bakterienlichtes liegt (obgleich das Licht natürlich möglichst stark sein muß), als in der Methode der Chlorophylluntersuchungen selbst.

Meine Versuche sind in einem großen, absolut dunklen Zimmer unternommen worden. Die Tür desselben war so eingerichtet (dank dem Vorhangsystem), daß das Licht beim Oeffnen der Tür nicht in den Raum dringen konnte. Die zur Untersuchung bestimmten Pflanzen befanden sich in der Zeit außerdem noch unter einer schwarzen Kartonglocke, deren Ende in ein großes, tiefes, mit Sand gefülltes Gefäß vertieft war. Hierdurch wurde das Durchdringen eines etwaigen Lichtstrahles bis zu den Pflanzen auch beim Oeffnen der Tür unmöglich gemacht. Unter einer solchen Glocke sind auch meine Versuche mit Hafer im Lichte von Photobacterium phosphorescens und später mit Gerste im Lichte von Photobacterium italicum angestellt worden.

Um einen möglichst konzentrierten Auszug zu erhalten, wurden nach Beendigung des Versuches in demselben Zimmer und bei demselben Bakterienlicht mit Hilfe einer Schere die Spitzen der Blätter durchschnitten und in 95° Alkohol gelegt. Nach Verlauf von 24 Stunden wurde der Alkoholauszug im Laboratorium durchfiltriert.

Dasselbe wurde gleichzeitig mit anderen Keimlingen unternommen, welche sich unter denselben Verhältnissen in demselben Zimmer befanden, aber nicht bei Bakterienlicht gewachsen waren. Beide durchfiltrierte Auszüge sind mit dem Zeissschen Spektralapparat untersucht worden (Linie D auf $\lambda = 589$) nach der schon längst beschriebenen Methode von Pringsheim[3]), welche uns gestattet, die Flüssigkeit in hohen Schichten (von 40 cm) zu untersuchen. Wie bekannt, ist diese Methode mit Erfolg von Monteverde[4]) angewandt worden.

In solchen hohen Schichten (40 cm) der Alkoholauszüge aus den

---

1) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. 1903. p. 497.

2) Sitzungsberichte der K. Akad. der Wissenschaften in Wien, Mathem.-naturw. Klasse. Bd. CXI. Abt. I. 1902.

3) Pringsheim, Monatsber. d. Berliner Akad. d. Wissensch. 1874.

4) Monteverde, Das Absorptionsspektrum des Chlorophylls. (Acta Horti Petropolitani. 1893.) — Ueber das Protochlorophyll. (Ibid. 1894. p. 202.)

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Blättern der Keimlinge kann man im Rot zwischen B und C ein charakteristisches Chlorophyllband beobachten, während es in den Kontrollauszügen der Keimlinge, welche sich nicht unter Einwirkung des Bakterienlichtes befanden, vollkommen fehlt.

Ich bin überzeugt (so viel ich nach den Photographieen urteilen kann), daß sich in den Versuchen von Molisch und O. Richter gleichfalls Chlorophyllbildungen befanden, da ihr Bakterienlicht genügend stark zu sein scheint, um Chlorophyllbildung hervorzurufen. Ihre Anwesenheit ist leicht festzustellen, indem man, wie schon erwähnt, von der Pringsheim-Monteverdeschen Methode in hohen Schichten Gebrauch macht.

Außerdem möchte ich noch eine Einwendung gegen einen Anspruch von Molisch[1]), was meinen Bericht anbetrifft, machen.

Molisch schreibt, daß ich die Chlorophyllbildung nur bei dem Hafer beobachtet habe, wogegen bei dem Klee „Das Resultat war negativ, spektroskopisch war Chlorophyll nicht nachzuweisen“[2]). Ich aber schreibe das „Entre $\lambda = 0{,}62$—$0{,}64$ on pouvait clairement observer la bande de protochlorophylle et entre $\lambda = 0{,}65$—$0{,}68$ moins claire, mais en tous cas, assez claire la bande de chlorophylle“[3]). Folglich ist das Resultat positiv gewesen. Wenn aber das Chlorophyllband „moins claire“ war, so kann man sich dieses dadurch erklären, daß das Licht des Reagenzglases nicht genügend stark gewesen ist.

Im II. Versuch mit Haferkeimlingen konnte keine Chlorophyllbildung eintreten, da die Einwirkung des Lichtes zu kurze Zeit gedauert hat (im ganzen nur 10 Stunden), wobei auch dieses Licht allmählich, aber ziemlich rasch abnahm, weil die Keimlinge den Sauerstoff verzehrten.

Ich habe diesen Versuch beschrieben, weil derselbe sich besonders anschaulich während der Vorlesungen erweist, um den Einfluß des Sauerstoffs auf das Leuchten zu beweisen.

Laboratorium des K. Bot. Gartens zu
St. Petersburg, April 1907.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres.

V. Bacillus flavus. VI. Bacillus cerevisiae.

[Aus dem botanischen Institut der Technischen Hochschule Graz (Vorstand: Prof. Friedrich Reinitzer).]

Von Dr. **Franz Fuhrmann,**

Privatdozent an der Technischen Hochschule und Universität zu Graz.

Mit 1 Tafel, 2 Kurven und 1 Textfigur.

V. Bacillus flavus[4]).

Diese Bakterienart wurde aus einem Flaschenbiere isoliert, dessen Alkoholgehalt 3,8 Gewichtsprozente betrug. Die Flasche war mit einem tadellosen Korkverschluß versehen. Das Bier selbst wies weder eine Trübung, noch einen nennenswerten Boden-

1) Molisch, Leuchtende Pflanzen. p. 148.
2) Molisch, Ibid. p. 148.
3) Issatchenko, Ibid. p. 498.
4) Sowohl mit dieser Bakterienart als auch mit B. cerevisiae stellte Herr Fr. Staudinger einzelne Versuche an, deren Ergebnisse teilweise mitbenutzt sind.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

satz auf. Im Kubikcentimeter der Bierprobe konnte mittels des Gelatineplattenverfahrens ein Bakteriengehalt von 96 Mikroben im Mittel nachgewiesen werden. Das Bier war sehr hefearm und vollständig frei von Schimmelsporen. Durch Agarplatten, die bei 35° gehalten wurden, konnten im Kubikcentimeter der gut durchgeschüttelten Probe 36—40 Bakterien nachgewiesen werden, die mit den auf der Gelatineplatte gewachsenen identisch waren. Es fehlten nur zwei Arten, deren Temperaturoptimum weit unter 35° C liegt und die deshalb sich nicht zu Kolonieen vermehren konnten. Zu den bei 35° C gewachsenen Mikroben gehört auch unsere Bakterienart, die entsprechend ihrer Begeißelung in die Gattung „Bacillus“ des Systems von Migula einzuordnen ist und entsprechend ihres Vermögens, einen gelben Farbstoff zu bilden, als Bacillus flavus bezeichnet erscheint.

Wachstum auf festen Nährsubstraten.

Auf der neutralen Gelatineplatte bildet Bacillus flavus kleine, scharf begrenzte, hellgelbe Kolonieen. Nach 24-stündigem Wachstum bei 20° C messen sie im Mittel 1 mm im Durchmesser. Sie sind wenig erhaben und zeigen nur in der Mitte eine kegelförmige Erhöhung. Ihre Form ist nahezu kreisrund, ihr Rand leicht gekerbt, ohne größere Einbuchtungen aufzuweisen. Nach 48-stündigem Wachstum verdoppeln die Kolonieen ungefähr ihre Größe. Ihre Farbe ist etwas dunkler geworden. Die Oberfläche der Auflagerungen ist feingekörnt und erscheint bei der Betrachtung im schräg einfallenden Lichte vielfach gebuckelt. Nach einigen Tagen sinken die Kolonieen etwas ein und zeigen in ihrer nächsten Umgebung eine geringe Einsenkung. Diese kommt dadurch zu stande, daß Bacillus flavus sehr wenig eines gelatinelösenden Enzyms bildet, so daß nur eine Erweichung des Nährbodens auftritt. Bei der nun stets auftretenden Austrocknung des Nährsubstrates zeigen sich dann die erwähnten Vertiefungen. Die Erweichung des Nährbodens schreitet so langsam vorwärts, daß mit ihr die Austrocknung Schritt halten kann, was zur Folge hat, daß eine komplette Verflüssigung der Nährgelatine überhaupt nicht zu beobachten ist. Die auf der Gelatine entstehenden Auflagerungen unseres Bakteriums lassen sich leicht abheben, zeigen dabei aber eine mehr zähe Beschaffenheit, ohne ausgesprochen fadenziehend zu sein. In Flüssigkeiten sind sie leicht zu verreiben und aufzuschwemmen.

Die in der Tiefe der Gelatineplatte angegangenen Kolonieen sind im Durchmesser etwas kleiner und von kugeliger Gestalt. Sie besitzen eine gelblich-schmutzigweiße Eigenfarbe und entsenden keine Ausläufer in den umgebenden Nährboden. Ihre Kontur ist scharf begrenzt, ohne jede Kerbung oder Hervorwölbung. Die einzelnen Kolonieen weisen im Innern eine netzartige Struktur auf, deren Aufbau radiär ist.

Das von 24-stündigen Oberflächenkolonieen der neutralen, bei 20° C gehaltenen Gelatineplatten hergestellte Ausstrichpräparat nach Färbung mit $^1/_8$ Karbolfuchsin zeigt fast eiförmige, kurze und an den Enden halbkugelig abgerundete Stäbchen, deren Länge 1—1,2 μ beträgt und deren Breite 0,6—0,8 μ mißt. Sie besitzen keine Neigung zur Bildung von Kettenverbänden und kommen als aneinanderhängende Teilungsprodukte höchstens zu zweien vereint vor. Außerdem weisen sie eine vollständig homogene Tinktion ihres Protoplasmas auf. In den jugendlichen Zellen sind so gut wie keine besonderen Plasmadifferenzierungen zu beobachten, mag man färben mit welcher wässerigen Anilinfarblösung

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

immer. Eine nennenswerte Formveränderung macht sich auch erst nach mehrtägigem Wachstum in der Kolonie bemerkbar. Die älteren Stäbchen färben sich dann weniger intensiv und erscheinen im allgemeinen lichter. Sie sind dann in allen Dimensionen gleichmäßig vergrößert und weisen im Mittel eine doppelte Länge und Breite auf. Das Plasma derartiger Stäbchen besitzt dann kein homogenes Aussehen mehr und man gewahrt in der Mitte eine hellere, weniger stark gefärbte Partie, die von einem gegen das Innere der Zellwand zu immer intensiver tingierten Saum umgeben ist. Es sei gleich bemerkt, daß es sich dabei aber um keine Anfänge einer Sporenbildung handelt, denn ich konnte das Auftreten endogener Sporen bei Bacillus flavus bisher nirgends beobachten. Fig. 6 der Tafel gibt uns das Photogramm eines Abklatsches einer 24-stündigen Gelatineoberflächenkolonie wieder, die mit $^1/_8$ Karbolfuchsin gefärbt wurde. Hier ist die homogene Tinktion ohne weiteres zu sehen, ebenso die fast absolut gleiche Größe sämtlicher Stäbchen des Kolonierandes.

Untersucht man nun eine junge Gelatineoberflächenkolonie unserer Bakterienart im hängenden Tröpfchen, so erweisen sich die einzelnen Stäbchen als lebhaft beweglich. Dabei ist die Bewegungsbahn völlig geradlinig. Die Bacillen führen neben der Ortsveränderung noch Pendelbewegungen um ihren Mittelpunkt aus, ungefähr so wie Bacillus subtilis. Noch bedeutend lebhafter wird die Bewegung bei der Zucht auf neutralem Nähragar in einer Temperatur von 32—35° C. Im ungefärbten Zustande bemerkt man weder an den jungen Stäbchen noch an den vergrößerten, älteren Formen eine Plasmadifferenzierung. Die älteren Stäbchen haben nur die Bewegung eingestellt.

Da nun Bacillus flavus die Gelatine nur langsam und sehr gering zu peptonisieren vermag, kann man mit Erfolg damit Gelatinestrichkulturen anlegen und sie durch mehrere Tage beobachten. Die bei 20° C gehaltenen neutralen Gelatinestrichkulturen zeigen nur ein spärliches Wachstum längs des Impfstriches. Nach 24 Stunden sieht man einen eben wahrnehmbaren schmalen Belag von schmutzig-gelbweißer Farbe. Seine Oberfläche ist feuchtglänzend ohne irgend ein auffallendes Strukturmerkmal. In der Folge verbreitert sich die glattrandige, ziemlich flache Auflagerung. Nach 4—5 Tagen wird eine geringe Verflüssigung dadurch augenfällig, daß der Kulturrasen auf der schiefen Ebene langsam herabzugleiten beginnt.

Auch die mit unserer Bakterienart angelegte Gelatinestichkultur bietet keine auffallenden Wachstumsmerkmale. Nach 24-stündigem Aufenthalt bei 20° C ist eben wahrnehmbares Wachstum in den oberen Teilen des Impfstiches und an der Oberfläche um den Stichkanal zu verzeichnen. Später entsteht um die Einstichöffnung herum eine mäßig dicke, hellgelbe und schwach durchscheinende Auflagerung. In der Tiefe des Impfstiches ist auch später das Wachstum nur sehr spärlich. Nach 10—12 Tagen beginnt eine schwache Verflüssigung unter Bildung einer Luftblasse einzutreten. In dextrosehaltiger Nährgelatine findet keine Gasbildung statt. Die Bakterienart zeigt auch keine Neigung, sich auf Gelatinenährböden weit auszubreiten.

Auf der schief erstarrten Agarfläche[1]) gezüchtet, gedeiht Bacillus flavus sowohl bei Zimmer- als auch bei Brüttemperatur besser als auf dem früher genannten Nährsubstrat. Optimales Wachstum ist bei einer Temperatur von 32—35° C zu verzeichnen.

1) Agar-Agar 1,5 g, Pferdefleischbrühe 100 ccm, Peptonum siccum Witte 0,5 g, Chlornatrium 0,5 g, Traubenzucker 1 g und Glycerin 0,5 ccm; Reaktion neutral.

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Bei den letztgenannten Temperaturen bildet sich schon nach 24 Stunden ein breiter Belag längs des Impfstriches. Der dünne Kulturrasen besitzt eine hellgelbe Farbe und ist durchscheinend. Seine Oberfläche hat einen feuchten Glanz, seine Ränder sind vielfach zart gebuchtet. Das Kondenswasser ist vollständig getrübt und weist einen beträchtlichen lichtgelben Bodensatz auf. Eine Kahmhaut ist nicht zu beobachten. In der Folge überzieht sich der Nährboden gleichmäßig mit dem Kulturrasen, dessen goldgelbe Farbe immer mehr hervortritt. Späterhin erfolgt eine leichte Fältelung der Auflagerung, einerseits durch das weitere Wachstum bedingt, andererseits durch die langsame Austrocknung des Nährbodens. An einigen Wochen alten Agarkulturen unseres Bakteriums ist das ganze Nährsubstrat von dem gelben Pigment durchsetzt. Wenn man nun eine alte Agarkultur zerkleinert und mit Wasser behandelt, kann man den Farbstoff extrahieren. Das Gleiche gelingt mit verdünnten Säuren und Alkalien. Fettlösende Mittel, wie Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzol, Aether, Alkohol und Aceton, vermögen das Pigment auch nicht spurweise zu lösen. Die durch Filtration oder Zentrifugieren geklärte wässerige Lösung des Pigments ist hellgelb. Sie verträgt ohne Verblassen oder Aenderung des Farbentones den Zusatz beträchtlicher Mengen von Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure oder Kali-(Natron-)Lauge. Auch gleichzeitiges Erwärmen verändert die Farbe nicht. Das Pigment ist jedoch im Lichte unbeständig, da Besonnung das mit dem Farbstoff durchtränkte und getrocknete Filtrierpapier bleicht.

Untersucht man nun den Kulturrasen 24-stündiger, bei 35° C gehaltener Agarkulturen unseres Bakteriums im hängenden Tropfen, so gewahrt man etwas kleinere, an den Enden abgerundete Stäbchen, wie in den Präparaten von jungen Gelatinekulturen. Außerdem sind die Stäbchen ausgezeichnet beweglich und schießen im Gesichtsfelde nur so hin. In den an solchen Kulturen nach dem vereinfachten Zettnowschen Verfahren hergestellten Geißelpräparaten bemerkt man eine peritriche Begeißelung der Bakterien. Jedes Stäbchen trägt 3—4 lange, schön geschwungene, zarte Geißelfäden, deren Länge das 5—7-fache der Bacillenlänge ausmacht. Dazu ist noch zu bemerken, daß bei unserer Bakterienart die Geißeldarstellung ziemliche Schwierigkeiten deshalb bereitet, weil die Bewegungsorgane gegen plötzliche Temperaturänderungen und Aenderungen der Salzkonzentrationen sehr empfindlich sind und von den Zellen abfallen. Schon das langsame Eintrocknen des Ausstriches genügt, um fast alle Stäbchen zu entgeißeln. Aus diesem Grunde sieht man auch im gelungenen Präparate immer eine große Anzahl von Geißelfäden frei ohne zugehörige Zelle.

Die mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparate von jungen 24-stündigen Agarstrichkulturen unseres Bakteriums zeigen nun entsprechend der Züchtungstemperatur verschieden große und gefärbte Stäbchen. Fig. 7 der Tafel zeigt uns das Photogramm eines mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstriches von Bacillus flavus, der durch 24 Stunden bei 20° C auf Agar gezüchtet wurde. Es fällt sofort die ungewöhnliche Kleinheit der Stäbchen auf gegenüber den auf Gelatine bei gleicher Temperatur gewachsenen (Fig. 6). Es sei noch erwähnt, daß beide Aufnahmen dieselbe Vergrößerung, nämlich 1000 linear, aufweisen. Dabei ist die Tinktion der Stäbchen vollständig homogen und intensiv. Die Bakterien sind aber in eine schleimige Grundmasse eingebettet, die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich mit Karbolfuchsin nur schwachrosa färbt. Auch in der zitierten Figur kann man diese Verhältnisse erkennen, denn die Stäbchen erscheinen von einem grauen Saum umgeben. Nur sehr selten gewahrt man etwas größere Formen, deren Färbung aber ebenfalls gleichmäßig ist. Züchtet man dagegen beim Temperaturoptimum, also 32—35° C, dann erhält man längere und breitere Formen, die aber die Größe der auf Gelatine gezüchteten Stäbchen ebenfalls kaum erreichen (vergl. Fig. 8 der Tafel). Mit Karbolfuchsin erhält man ebenfalls eine vollständig homogene Tinktion der jungen Teilungsprodukte. Nur die in Teilung befindlichen Stäbchen zeigen eine Differenzierung ihres Protoplasmas. Es findet eine Scheidung in eine mit Karbolfuchsin intensiver färbbare Substanz und eine damit sich nur schwach tingierende Masse statt. Erstere sammelt sich an den beiden Polen regelmäßig an, letztere in der Mitte dazwischen. Die Teilung schneidet nun in letzterer ein und mit fortschreitender Durchschnürung und Ausbildung der Tochterzellen findet wieder eine gleichmäßige Durchmischung beider Substanzen statt, so daß wir in den vollendeten Teilungsprodukten wieder eine homogene Färbung finden. Besonders auffallend vergrößerte Stäbchen und Erscheinungen, die ich an Pseudomonas-Arten seinerzeit beschrieb, traf ich hier niemals an. Dafür treten in älteren Kulturen intensiv gefärbte, keulenförmige Gebilde auf, die regelmäßig zu zweien vorkommen und mit dem Scheitel ihrer verbreiterten Enden sich berühren. In meinen späteren Mitteilungen zur Entwickelungsgeschichte von Pseudomonas und Bacillus Migula kommen diese Erscheinungen eingehend zur Sprache und seien hier nur nebenbei erwähnt.

Benützt man an Stelle des Karbolfuchsin eine wässerige Gentianaviolettlösung, so ist in der üblichen Tinktionszeit die Färbung intensiv. Ueberhaupt gehört Bacillus flavus zu den mit Anilinfarben leicht färbbaren Bakterien.

Nach Gram behandelt, behalten die Stäbchen weder junger noch älterer Kulturen unseres Bakteriums den Farbstoff. Nur in jenen Keulenformen, die ich früher erwähnte, kommt es zur Tinktion kleinster Körnchen, so daß von einer partiellen Gramschen Färbung bei diesen Gebilden gesprochen werden kann. Ich erinnere hier nur an das Verhalten der Bakterioiden, an denen Hiltner ebenfalls die Gram-Färbung des mit Jodtinktur sich rotbraun färbenden Kernplasmas unter gewissen Bedingungen feststellen konnte. Eine partielle positive Gram-Färbung ist übrigens bei den sich in jungen Kulturen nach Gram gut färbenden Stäbchen im Alter keine Seltenheit. Hier handelt es sich aber um Bakterien, die sich in toto niemals nach der Gramschen Methode tingieren lassen.

Die Agarstichkultur von Bacillus flavus läßt sowohl bei Zimmer- als auch bei Brüttemperatur spärliches Wachstum im Stichkanal und sehr gute Vermehrung auf der Oberfläche erkennen. Es bildet sich um den Impfstich eine schon früher charakterisierte Auflagerung von goldgelber Farbe, von der aus der Farbstoff langsam in die Tiefe diffundiert. Eine Gasbildung fehlt auch hier, trotz der Anwesenheit von spaltbaren Kohlenhydraten, wie beispielsweise Dextrose.

Die mit unserem Bacillus ausgeführte anaërobe Kultur in der Buchnerschen Röhre ergibt Wachstum, das allerdings langsamer ist als unter Zutritt des freien Luftsauerstoffes. Eine Farbstoffbildung konnte unter diesen Umständen allerdings nicht beobachtet werden. Bacillus flavus ist also ein fakultativer Anaërobiont.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auf der sterilisierten Kartoffelscheibe bildet Bacillus flavus nach 24 Stunden bei 35° einen schmalen, honiggelben Belag längs des Impfstriches. Die Auflagerung erscheint feuchtglänzend und schleimig. Später verbreitert sich der Kulturrasen langsam und nimmt eine dunklere Färbung an. Im hängenden Tropfen untersucht, sind die auf der Kartoffel gezüchteten Bacillen teilweise gut beweglich. Daneben findet man aber auch solche, die eine Länge von 2—3,8 μ besitzen und keine Bewegung mehr aufweisen. In Bezug auf die färberischen Erscheinungen ist nichts Wesentliches zu bemerken.

Selbst nach monatelanger Zucht auf der Kartoffelscheibe vermißt man jede Sporenbildung, die übrigens auch bei der Zucht in allen übrigen üblichen Nährsubstraten niemals zu beobachten war. Trotzdem aber die als endogene Sporen bekannten Dauerformen fehlen, bleiben nicht nur Kartoffelkulturen, sondern auch Agar- und Gelatinezuchten durch 8—10 Monate lebensfähig ohne dazwischenliegende Uebertragung auf neue Nährsubstrate. Ueber den Modus der Erhaltung der Art in ungünstigen Ernährungsbedingungen bei Bacillus flavus eingehende Mitteilungen zu machen, behalte ich mir für später vor.

Auf die Scheibe von gekochtem Hühnerei verimpft, bildet Bacillus flavus längs des auf dem Weißen gezogenen Impfstriches schon nach 24 Stunden einen dottergelben glänzenden Belag, sofern man beim Temperaturoptimum züchtet. Bei Zimmertemperatur ist das Wachstum noch als gut zu bezeichnen, doch bedeutend verlangsamt. Veränderungen an dem Nährsubstrat selbst sind dabei nicht zu beobachten.

Wachstum in flüssigen Nährsubstraten.

In neutraler Nährbouillon mit Zusatz von 1—2 Proz. Dextrose ist das Wachstum unseres Bacillus bei Brüttemperatur ausgezeichnet. Schon nach 24 Stunden bemerkt man eine starke allgemeine Trübung und einen bedeutenden weißgelben Niederschlag, der sich beim Aufschütteln in der Flüssigkeit leicht verteilen läßt. Ohne Zusatz von Dextrose ist das Wachstum zwar auch gut, doch wesentlich geringer. In jüngeren Kulturen mit oder ohne Beigabe von Traubenzucker werden keine Kahmhäute gebildet. Diese treten erst spät auf, ungefähr nach 6-tägigem Wachstum. Zu dieser Zeit hat sich die Kulturflüssigkeit bereits geklärt. Am Boden befindet sich dann ein massiger, gelbweißer Niederschlag und die Oberfläche bedeckt eine zarte, lichtgelb gefärbte Kahmhaut. Auch in der Folge nimmt sie an Dicke nur unbedeutend zu. Im allgemeinen ist beim Wachstum in flüssigen Nährsubstraten nur eine geringe Pigmentbildung zu verzeichnen. Die Kahmhaut ist lichtgelb gefärbt und die Nährflüssigkeit selbst besitzt die gleiche Farbe. In den mit Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparaten von einer 24-stündigen, bei 35° C gewachsenen Bouillonkultur von Bacillus flavus bemerkt man nur gut tingierte, kleine und an den Enden fast halbkugelig abgerundete Stäbchen. Weder Methylenblau- noch Fuchsinfärbungen decken irgendwelche Plasmadifferenzierungen auf. Die Bakterien erscheinen vollständig homogen tingiert. Erst in älteren Kulturen sind sowohl an gefärbten als auch an ungefärbten Präparaten ganz bestimmte Plasmadifferenzierungen zu beobachten, die endlich zu Formen überleiten, die für die Erhaltung der Art wesentlich in Betracht kommen.

Züchtet man in neutraler Nährbouillon bei Zimmertemperatur, so ist das Wachstum ganz bedeutend verlangsamt. Im übrigen gleichen die Verhältnisse dabei vollständig den soeben beschriebenen. Daß die Bak-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

terien in jungen Bouillonkulturen ausgezeichnet beweglich sind, braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden. Wenn man nun eine 48-stündige, bei 35° C in neutraler Bouillon mit 1 Proz. Dextrosezusatz gewachsene Kultur titriert, so entspricht die in dieser Zeit gebildete Säuremenge 2,897 ccm Normalalkali im Mittel.

In Peptonwasser ist das Wachstum verhältnismäßig gering. Nach 24-stündigem Aufenthalt bei 35° C zeigen die Peptonwasserkulturen von Bacillus flavus nur eine spurweise allgemeine Trübung und weder einen Bodensatz noch eine Kahmhaut. In der Folge wird die Trübung der Nährflüssigkeit stärker und ein Bodensatz erscheint. Doch wird niemals jener Grad erreicht wie in neutraler Nährbouillon. Eine Indolbildung konnte selbst nach wochenlangem Wachstum nicht nachgewiesen werden. Bezüglich der im Ausstrichpräparat vorhandenen Formen verweise ich auf das über die Bouillonkultur Gesagte.

In steriler Milch wächst unsere Bakterienart schlecht. Bei geringem Wachstum treten keine augenfälligen Veränderungen dieses Nährsubstrates ein. Erst nach 8—10 Tagen zeigt die Milch eine dickliche Beschaffenheit; das Kasein ist nicht in Form eines kompakten Niederschlages ausgefällt, sondern in eine weiche, schmierige Masse verwandelt. Allmählich hellt sich die Milchkultur auf, da in der Folge das Kasein komplett gelöst wird.

Wachstum auf verschieden sauerer und alkalischer Gelatine und Bouillon.

Bezüglich der Technik dieser Versuche verweise ich auf meine früheren Mitteilungen „Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres“ [1]). Es hat sich nun bei dieser Bakterienart die interessante Tatsache herausgestellt, daß nur in den Röhrchen mit neutraler Gelatine und Gelatine mit 1 und 2 Proz. Normalnatronlauge Wachstum eingetreten ist. Das beste Wachstum ist entsprechend der Verflüssigung und der Mächtigkeit des Kulturrasens bei einem Gehalt von 1 Proz. Normalnatronlauge. In den Röhrchen mit 1 Proz. Essigsäure und 3 Proz. Alkali ist nicht die Spur eines Wachstums zu beobachten, trotzdem die Beobachtungsdauer 6 Wochen betrug. Wir sehen also hier eine Bakterienart, die nur bei einem geringen Alkaligehalt und neutraler Reaktion der Gelatine gut zu gedeihen vermag.

Aehnliche Verhältnisse deckt uns auch der Versuch mit verschieden sauerer, neutraler und verschieden alkalischer Nährbouillon mit 1 Proz. Dextrosegehalt auf. In der folgenden Tabelle I sind die dabei gewonnenen Ergebnisse zusammengefaßt.

(Siehe Tabelle I p. 124.)

Aus Tabelle I geht ohne weiteres hervor, daß das beste Wachstum auch in Bouillon bei einem Gehalt von 1 Proz. Normallauge zu verzeichnen ist. Fast ebensogut ist es bei neutraler Reaktion, wie bei 2 und 3 Proz. Normalnatronlauge. Bei 4 Proz. Normalalkali ist nur spurweises Wachstum mehr zu verzeichnen. Auch ein sehr geringer Säuregehalt wirkt schon sehr hemmend auf das Wachstum, denn in dem Röhrchen mit einer Menge von 1 Proz. Normalessigsäure in der Nährbouillon war fast keine Vermehrung der eingesäten Bakterien zu

1) Fuhrmann, F., Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 316 u. Bd. XVII. 1900 p. 456.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

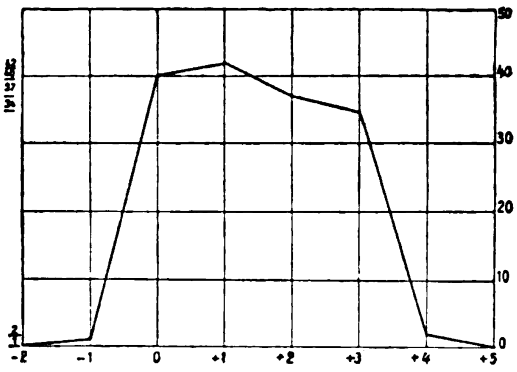
Bezeichnung in der Kurve	100 ccm Bouillon enthalten ccm $N.C_2H_4O_2$	100 ccm Bouillon enthalten g $C_2H_4O_2$	100 ccm Bouillon enthalten ccm N.NaOH	100 ccm Bouillon enthalten g NaOH	Wachstum nach 24 Stunden bei 36° C	Wachstum nach 48 Stunden bei 36° C
— 2	2	0,12	—	—	Kein Wachstum	Kein Wachstum
— 1	1	0,06	—	—	Spur Trübung ohne Bodensatz	Keine Zunahme des Wachstums
0	0	0	0	0	Sehr gutes Wachstum, allgemeine Trübung, starker Bodensatz, keine Kahmhaut	Sehr gutes Wachstum, starke allgemeine Trübung, ebensolcher Bodensatz. Keine Kahmhaut
+ 1	—	—	1	0,04	Sehr gutes Wachstum, etwas größer als bei 0	Etwas stärkeres Wachstum als bei neutral
+ 2	—	—	2	0,08	Etwas geringeres Wachstum und geringerer Bodensatz	Noch etwas geringeres Wachstum als bei 1-proz. Alkaligehalt
+ 3	—	—	3	0,02	Noch geringeres Wachstum mit sehr geringem Bodensatz	Wachstum etwas geringer als bei 2-proz. Alkaligehalt
+ 4	—	—	4	0,16	Noch kein Wachstum	Kein Wachstum
+ 5	—	—	5	0,20	Kein Wachstum	Kein Wachstum

beobachten. Wenn wir die hier erhaltenen Ergebnisse mit denen der Wachstumsversuche auf verschieden sauerer, neutraler und verschieden alkalischer Gelatine vergleichen, so kommen wir zu dem Schlusse, daß Bacillus flavus in Nährbouillon eine größere Säure- bezw. Alkalimenge verträgt als beim Wachstum auf Gelatine.

Wenn wir nun die nach 24-stündigem Aufenthalte der gleichmäßig beimpften, verschieden saueren, neutralen und verschieden alkalischen Bouillonkulturen noch lebenden Bakterien durch Aussaat gleichgroßer Kulturmengen in Gelatine mittels Zählung der angegangenen Kolonieen bestimmen oder direkte Zählungen der Bakterien unter dem Mikroskope vornehmen, erhalten wir Zahlen, mit denen wir eine Wachstumskurve konstruieren können. Dabei ist aber zu bemerken, daß die direkt in einem Kubikmillimeter oder in einem noch kleineren Volumen Kultur nachgewiesenen bezw. gezählten Bakterien zu große Zahlen ergeben. Es wurden deshalb der Einfachheit halber alle Zahlen durch die Zahl dividiert, die die Zählung der am schlechtesten gewachsenen Kultur ergab. Deshalb ist das geringste Wachstum durch die Größe 1 bezeichnet. Da der Verlauf der Kurve doch nur die Wachstumsunterschiede in den einzelnen Röhrchen angibt, so ist eben das Hauptgewicht auf diese relativen Werte gelegt. Die Kurve I ist nun mit den nach obigen Ueberlegungen erhaltenen Wachstumszahlen in der Weise konstruiert, daß diese auf der Ordinate aufgetragen sind, die Mengen Prozente Alkali oder Säure auf der positiven bezw. negativen Seite als Abscissen. Dabei sind sowohl hier als auch bei den früheren Kurven die Abstände so gewählt, daß 10 Wachstumsgrößen 1 Proz. Alkali bezw. Säure entsprechen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

An Kurve I sehen wir, daß für Nährbouillon mit 1 Proz. Traubenzuckergehalt das Alkaleszenzoptimum bei einem Gehalt von 1 Proz. Normalnatronlauge liegt. Zwischen neutral und + 3 ist das Wachstum im allgemeinen ausgezeichnet. Der Unterschied in der Wachstumsgröße beträgt hier nur 8 (von 42—34). Sowohl bei geringem Säuregehalt (— 1) als auch bei höherem Alkaligehalt (+ 4) fällt das Wachstum rasch ab, wie aus der Kurve zu entnehmen ist. Bei einer Menge von 2 Proz. Normalessigsäure oder 5 Proz. Normalnatronlauge in der Nährbouillon findet überhaupt kein Wachstum mehr statt.



Kurve I.

Wachstum auf anorganischer Nährlösung mit besonderen Stickstoff- und Kohlenstoffquellen.

Als anorganische Nährlösung diente auch hier die von Arthur Meyer[1]) als mineralische Nährlösung II angegebene Lösung, deren Zusammensetzung folgendermaßen war:

KH_2PO_4 1 g, $CaCl_2$ 0,1 g, $MgSO_4 + 7 H_2O$ 0,3 g, ClNa 0,1 g, destilliertes Wasser 1000 ccm.

Dieser Stammlösung wurden nun besondere Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen zugesetzt. Die Impfung der einzelnen, gleiche Mengen der Nährlösung enthaltenden Röhrchen mit ebenfalls gleichgroßen Quantitäten einer Aufschwemmung der Agarkultur unseres Bakteriums in der oben angegebenen Stammlösung wurde mit der Oese vorgenommen. So gelang es wenigstens, annähernd gleiche Bakterienmengen zu verimpfen und die Wachstumsgrößen in den einzelnen Röhrchen untereinander zu vergleichen.

Bei diesen Versuchen dienten als Stickstoffquellen Asparagin, milchsaures Ammonium, weinsaueres Ammonium, Chlorammonium und endlich Kaliumnitrat in einer Menge von 1 Proz. Als besondere Kohlenstoffquellen kamen zur Verwendung Dextrose, Saccharose, Laktose und Glycerin, ebenfalls in einer Menge von 1 Proz. Sämtliche Nährlösungen wurden mit 2 Proz. Natronlauge auf eine genau neutrale Reaktion gebracht (Indikator Lackmus). Um weitgehendere Veränderungen bei der Sterilisation im Dampftopfe möglichst hintanzuhalten, wurde die Dämpfungszeit auf das Minimum herabgesetzt. Um vollständige Sterilität der Lösungen zu erhalten, genügte eine zweimalige Sterilisation von je 8 Minuten im strömenden Dampfe.

Die Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

1) Meyer, Arthur, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle II.

Nummer	Mineralische Nährlösung ccm	Asparagin g	Ammoniumlaktat g	Ammoniumtartrat g	Ammoniumchlorid g	Kaliumnitrat g	Dextrose g	Saccharose g	Laktose g	Glycerin g	Wachstum nach 48 Stunden bei 36° C	Wachstum nach 5 Tagen bei 36° C
1	100	1	—	—	—	—	1	—	—	—	Allgemeine Trübung, beträchtlicher Bodensatz, keine Kahmhaut. Wachstum gut	Allgemeine Trübung mit Bodensatz; keine Kahmhaut. Wachstum nicht sonderlich vermehrt gegen Beobachtung nach 48 Stunden. Reaktion: stark sauer
2	100	1	—	—	—	—	—	1	—	—	Wachstum fast ebenso gut wie in No. 1	Bedeutend besseres Wachstum als bei No. 1. Allgemeine Trübung, starker Bodensatz. Am Glase hinaufsteigende Hautbildung. Reaktion: Spur sauer
3	100	1	—	—	—	—	—	—	1	—	Spur Trübung, wodurch die Nährflüssigkeit nur leicht opaleszierend erscheint; kein Bodensatz, keine Kahmhaut	Wachstum etwa wie bei No. 1. Allgemeine Trübung, aber sehr geringer Bodensatz. Keine Kahmhaut. Reaktion: neutral
4	100	1	—	—	—	—	—	—	—	1	Etwas geringeres Wachstum als in No. 2; schwächere allgemeine Trübung mit Spur Bodensatz. Keine Kahmhaut	Sehr gutes Wachstum. Starke, ziemlich derbe, weiße Kahmhaut, die beim Schütteln in grobe Flocken zerfällt. Starker Bodensatz. Reaktion: Spur sauer
5	100	—	1	—	—	—	1	—	—	—	Ungefähr ebenso gutes Wachstum wie in No. 4. Allgemeine Trübung mit äußerst geringem Bodensatz. Keine Kahmhaut	Schwache allgemeine Trübung, keine Kahmhaut, wenig Bodensatz. Reaktion: stark sauer
6	100	—	1	—	—	—	—	1	—	—	Wachstum etwas geringer als in No. 5. Allgemeine Trübung ohne Bodensatz und Kahmhaut	Etwas besseres Wachstum als in No. 5; schwache allgemeine Trübung, geringer Bodensatz. Geringe Kahmhautbildung im Glas. Reaktion: sauer
7	100	—	1	—	—	—	—	—	1	—	Das Wachstum äußert sich nur durch das Auftreten einer eben bemerkbaren Opaleszenz. Kein Bodensatz, keine Kahmhaut	Wachstum etwas geringer als in No. 6. Dieselben Erscheinungen. Reaktion: neutral
8	100	—	1	—	—	—	—	—	—	1	Wachstum etwa so groß wie in No. 6. Allgemeine Trübung mit sehr geringem Bodensatz. Keine Kahmhaut	Gutes Wachstum ungefähr wie bei No. 2. Allgemeine Trübung, Bodensatz. Kahmhaut zart, aber deutlich. Reaktion: Spur sauer
9	100	—	—	1	—	—	1	—	—	—	Wachstum wie bei No. 5. Allgemeine Trübung mit Bodensatz. Keine Kahmhaut	Ziemlich gutes Wachstum. Allgemeine Trübung, Bodensatz. Keine Kahmhaut. Reaktion: sauer
10	100	—	—	1	—	—	—	1	—	—	Wachstum etwa halb so gut wie in No. 9. Schwächere Trübung und bedeutend geringerer Bodensatz	Ungefähr gutes Wachstum, wie in No. 9. Allgemeine Trübung, Bodensatz, jedoch keine Kahmhaut. Reaktion: sauer

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mineralische Nährlösung ccm	Asparagin g	Ammonium-laktat g	Ammonium-tartrat g	Ammonium-chlorid g	Kaliumnitrat g	Dextrose g	Saccharose g	Laktose g	Glycerin g	Wachstum nach 48 Stunden bei 36° C	Wachstum nach 5 Tagen bei 36° C
100	—	—	1	—	—	—	—	1	—	Noch kein wahrnehmbares Wachstum	Aeußerst geringe Spur einer Opaleszenz. Fast gar kein Wachstum. Kein Bodensatz, keine Kahmhaut. Reaktion: neutral
100	—	—	1	—	—	—	—	—	1	Etwa halb so gutes Wachstum wie in No. 10. Schwache allgemeine Trübung ohne nennenswerten Bodensatz. Keine Kahmhaut	Gutes Wachstum. Starke allgemeine Trübung und beträchtlicher Bodensatz. Spur Kahmhaut. Das beste Wachstum mit Ammoniumtartrat als N-Quelle hier. Reaktion: Spur sauer
100	—	—	—	1	—	1	—	—	—	Noch keine wahrnehmbare Vermehrung der eingesäten Bakterien	Aeußerst geringe, allgemeine Trübung; kein Bodensatz, keine Kahmhaut. Reaktion: sauer
100	—	—	—	1	—	—	1	—	—	Noch kein wahrnehmbares Wachstum	Kein Wachstum
100	—	—	—	1	—	—	—	1	—	Noch kein wahrnehmbares Wachstum	Kein Wachstum
100	—	—	—	1	—	—	—	—	1	Spur Wachstum. Geringe Opaleszenz. Kein Bodensatz	Verhältnismäßig bestes Wachstum in Nährlösung mit NH_4Cl als N-Quelle. Allgemeine Trübung, schwacher Bodensatz, äußerst geringe Hautbildung am Glasrande. Reaktion: Spur sauer
100	—	—	—	—	1	1	—	—	—	Allgemeine Trübung, allerdings gering. Kein Bodensatz. Keine Kahmhaut. Sehr geringes Wachstum.	Sehr geringes Wachstum. Geringe Trübung, sehr wenig Bodensatz. Keine Kahmhaut. Reaktion: schwach sauer. Nitrit: + (sehr stark)
100	—	—	—	—	1	—	1	—	—	Eben wahrnehmbares Wachstum. Spur allgemeine Trübung ohne jeden Bodensatz. Keine Kahmhaut	Etwas besseres Wachstum als in No. 17. Schwache allgemeine Trübung. Spur Bodensatz. Keine Kahmhaut. Reaktion: Spur sauer. Nitrit: + (sehr stark)
100	—	—	—	—	1	—	—	1	—	Noch kein Wachstum	Geringste Spur Wachstum. Kaum wahrnehmbare Trübung. Keine Spur Bodensatz. Reaktion: neutral. Nitrit: Spuren
100	—	—	—	—	1	—	—	—	1	Noch kein Wachstum	Verhältnismäßig bestes Wachstum in den Nährlösungen mit KNO_3 als N-Quelle. Starke allgemeine Trübung, jedoch keine Kahmhaut. Beträchtlicher Bodensatz. Reaktion: Spur sauer. Nitrit: + (sehr stark)

(Schluß folgt.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Der Einfluss des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien.

[Arbeit aus dem landw.-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **Guido Koestler,**

Assistent der Bernischen Molkereischule Rütti-Zollikofen (Schweiz).

Mit 18 Fig.

(Fortsetzung.)

Bei den tiefen Temperaturen hat der Luftausschluß nur einen geringen Einfluß auf die Größe der Säuerungsintensität; derselbe ist bei 36° C gleich Null, und erst hier beginnt die Zone einer stärkeren Wirksamkeit des Sauerstoffausschlusses. Der absolut höchste Säuregrad wird bei 44° C und Luftausschluß erhalten. Bei den höchsten Temperaturen sind ähnliche Verhältnisse, wie bei den tiefen. Die relative Steigerung, d. h. diejenige, die sich ausdrückt durch den Quotienten

$$\frac{\text{Säuregrad bei Luftabschluß}}{\text{Säuregrad bei Luftzutritt}} = \frac{H}{O}$$

ist bei 48° C am größten; ihr Maximum fällt also nicht zusammen mit dem Maximum der Säureproduktion überhaupt. Die wirksamste Zone für den Luftausschluß in der Milchsäuregärung der Molken liegt bei dieser Reihe zwischen 44—48° C.

Da die Säuerungszeit etwas kurz gewählt war, infolgedessen auch die Zahlen etwas niedrig ausfielen, so sollte dieser Versuch wiederholt werden.

Diesmal wurde eine Ausführung in zwei Teilversuchen vorgezogen. Zudem bestimmten wir die Säuregrade nach 12, 24 und 36 Stunden, was auch eine entsprechende Vermehrung der angesetzten Proben bedeutete. Dabei zogen wir sowohl die nicht erhitzte, als auch die gewärmte Molke des gleichen Käses in Betracht. Der erste der Teilversuche umfaßt die Temperaturen 52—42° C, der zweite diejenigen von 40—32° C.

(Siehe Tabelle II. Fig. 2 p. 129 und Tabelle III. Fig. 3 p. 130.)

Versuche 9 und 10.

Zum Ansatz kamen also von jeder der beiden Molken A und B für jede Temperatur 6 Proben (mit und ohne Wasserstoff je 3), so daß jedes Wasserbad 12 Versuchskölbchen enthielt. Nach 12, 24 und 36 Stunden gelangten je ein wasserstoff- und je ein lufthaltiges Kölbchen aus jedem Wasserbad zur Prüfung auf den Säuregrad.

Die Resultate sind aus den folgenden Tabellen II und III ersichtlich:

Auch diese Tabellen lassen aufs deutlichste eine gewisse Gesetzmäßigkeit erkennen, bezüglich der Abhängigkeit der durch Sauerstoff-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Spontane Milchsäuregärung bei Luftzutritt bezw. -ausschluß für die Temperaturen 52—32° C.

Molke A.

Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Molke

Temperatur-schwankungen		51,5 —52,5	49,0 —50,0	47,0 —48,5	45,5 —46,5	43,5 —44,5	41,5 —42,5	39,5 —41,0	Thermost.	35,0 —36,5	33,5 —34,0	31,5 —32,0
mittl. Temp.		51,7	49,9	47,9	46,0	43,8	41,8	39,9	37,4	35,9	33,8	31,7
12 St.	—	6,4	9,8	19,8	24,6	26,6	19,8	18,0	17,2	12,8	14,0	13,7
	+	5,2	8,4	16,0	14,6	21,8	17,3	16,8	16,0	12,8	11,2	10,6
	D	1,2	1,4	3,8	10,0	4,8	2,5	1,2	1,2	0	2,8	3,1
24 St.	—	21,4	28,2	39,6	47,0	47,4	43,8	38,6	39,8	27,2	21,3	19,5
	+	20,6	26,8	28,6	27,8	38,6	33,2	30,6	33,2	23,7	19,3	19,1
	D	0,8	1,4	11,0	19,2	8,8	10,6	8,0	6,6	3,5	2,0	0,4
36 St.	—	27,4	32,8	45,0	51,2	56,6	52,6	53,6	51,6	37,6	27,2	23,6
	+	25,4	31,2	32,0	34,4	46,0	43,8	42,4	45,6	33,2	28,0	23,6
	D	2,0	1,6	13,0	16,8	10,6	8,8	11,2	6,0	4,4	—0,8	0

— bed. Luftausschluß, + bed. Luftzutritt, D bed. Differenz.

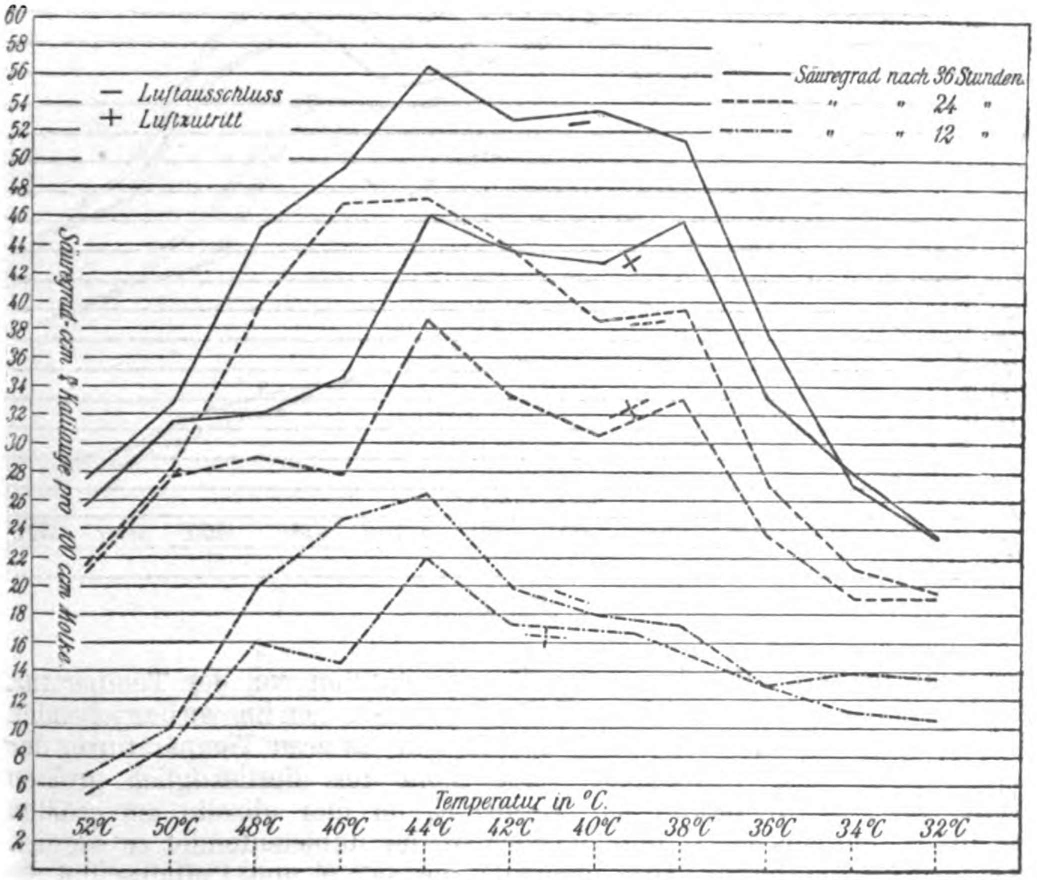


Fig. 2.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Spontane Milchsäuregärung bei Luftzutritt bezw. -ausschluß für Temperaturen 52—32° C.

Molke B.

		Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Molke										
Temperatur-schwankungen		51,5—52,5	49,0—50,0	47,5—48,5	45,5—46,5	43,5—44,5	41,5—42,5	39,5—41,0	Thermost.	35,0—36,5	33,5—34,0	31,5—32,0
mittl. Temp.		51,7	49,9	47,9	46,0	43,8	41,8	39,9	37,4	35,9	33,8	31,7
12 St.	—	5,6	8,2	12,0	17,6	20,2	16,0	14,2	12,0	10,0	7,8	6,9
	+	5,0	6,8	8,0	9,4	13,8	14,0	14,0	12,8	11,2	8,4	7,0
	D	0,6	1,4	4,0	8,2	6,4	2,0	0,2	— 0,8	— 1,2	— 0,6	— 0,1
24 St.	—	17,0	25,1	25,2	35,6	37,9	32,0	31,6	32,4	25,0	19,7	15,8
	+	14,2	22,6	22,0	22,6	27,4	28,5	25,0	31,6	21,3	19,7	16,9
	D	2,8	2,5	3,2	13,0	10,5	3,5	6,6	0,8	3,7	0	— 1,1
36 St.	—	20,4	26,6	33,4	39,2	44,0	42,2	35,0	41,0	36,2	27,2	22,4
	+	25,4	29,6	29,4	32,0	37,1	34,4	32,8	37,2	33,8	25,4	22,8
	D	— 5,0	— 3,0	4,0	7,2	6,9	7,8	2,2	3,8	2,4	1,8	— 0,4

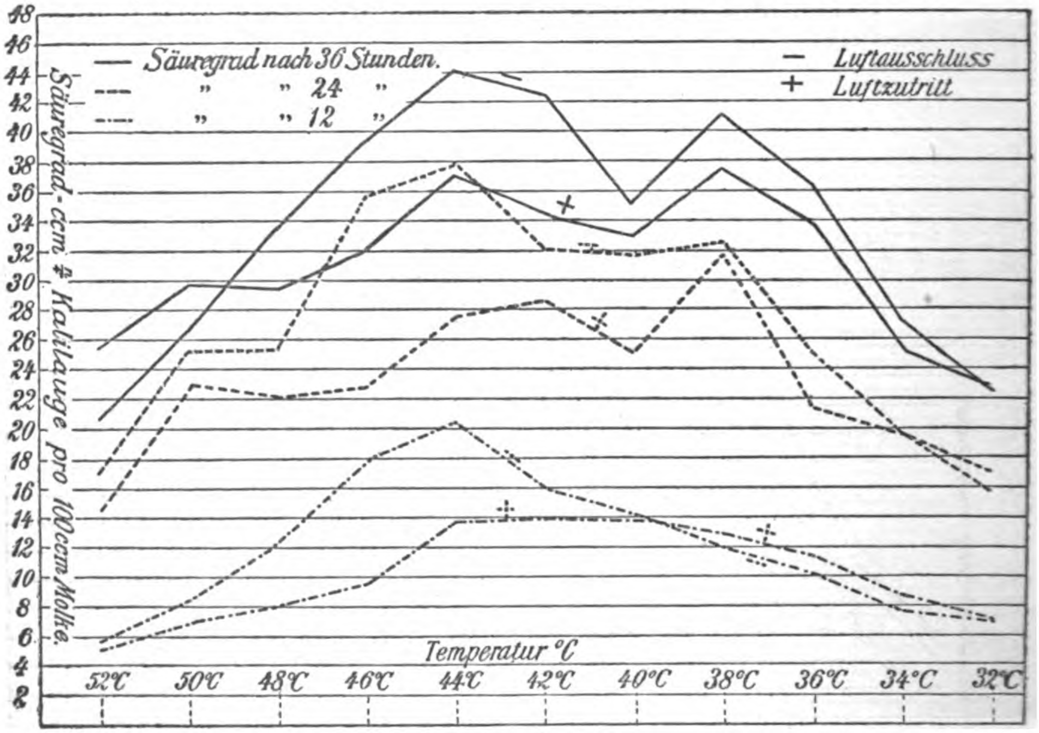


Fig. 3.

ausschluß erzielten Erhöhung der Säureproduktion von der Temperatur. Die Ergebnisse decken sich auffallend gut mit den im vorhergehenden Versuch erhaltenen. Auch hier ist für die unteren Temperaturen der Luftausschluß fast wirkungslos. Die Zone des diesbezüglich größten Einflusses liegt wiederum bei 44—48° C, ist hier absolut am größten bei 46° C, um bei 48° C und darüber wieder unbedeutender zu werden. Der höchste Säuregrad wird ebenfalls bei 44° C und Luftabschluß erreicht, wie wir es schon in Versuch 8 konstatieren konnten. Die Verhältnisse erhalten sich im Laufe der Säuerung; denn die für 12, 24 und

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

36 Stunden eingezeichneten Kurven decken sich ziemlich genau. Daß für Molke B die Gärtätigkeit im allgemeinen kleiner ist, erklärt sich ohne Schwierigkeit, wenn wir bedenken, daß das Erhitzen dieser Molkenprobe im Käsekessel die Bakterienflora geschwächt haben wird.

b) Bei verschiedenem Stickstoffgehalt der Kultur.

Da der Stickstoffgehalt des Nährsubstrates für die Milchsäuregärung eine wichtige Rolle spielt, so schien es von Belang zu sein, an Hand des von uns näher studierten Gärungsbeispieles, hierüber weiteren Aufschluß zu erhalten. Da jedoch aus der Praxis keine Molken mit erheblich verschiedenem Stickstoffgehalte beschafft werden konnte, mußte die Erhöhung des letzteren durch entsprechenden Zusatz einer leicht assimilierbaren stickstoffreichen Substanz erzielt werden.

Wie aus den Arbeiten verschiedener Forscher[1]) hervorgeht, ist Pepton eine der vorzüglichsten Stickstoffquellen für Milchsäurebakterien. Wir entschlossen uns daher, der Molke in steigenden Mengen käufliches Peptonum siccum (Witte) zuzusetzen (1,0; 1,5; 2,5 und 3,5 ‰). Von jedem dieser 5 Nährsubstrate wurden nun 6 Proben mit und ebenso viele ohne Wasserstoff in üblicher Weise angesetzt und gleichmäßig auf 6 Wasserbäder verteilt. Nach 10 Stunden wurde der Versuch unterbrochen.

Versuch No. 11.

Säuregrad nach 10 Stunden.

Peptonzusatz ‰	Säuregrad beim Ansatz	49,0—50,5 50,1° C		45,5—47,0 46,1° C		43,5—45,0 43,8° C		40,5—41,5 40,9° C		Thermostat 37,6° C		33,0—35,0 34,9° C	
		Luft	Wasserstoff	Luft	Wasserstoff	Luft	Wasserstoff	Luft	Wasserstoff	Luft	Wasserstoff	Luft	Wasserstoff
0	4,5	5,5	6,0	9,0	13.8	12,5	16,5	14,4	18,4	10,8	10,0	10,2	11,6
1,0	4,5	12,0	11,2	13,8	18,2	13,0	17,6	13,0	21,0	15,4	14,6	13,4	16,5
1,5	5,0	14,2	13,2	15,6	17,5	17,0	19,6	14,4	20,2	14,0	14,2	12,0	17,4
2,5	5,5	13,6	16,8	18,4	21,2	18,6	21,4	15,8	22,2	15,0	14,0	12,2	17,8
3,5	6,5	13,5	18,3	22,4	26,2	20,0	25,8	20,0	24,4	17,0	16,2	15,0	19,4

Für alle Temperaturen steigt mit dem Peptongehalt des Substrates auch die Säuerungsgeschwindigkeit; die Differenzen sind etwas klein, weil die Versuchsdauer zu kurz gewählt wurde. Für die Molke ohne Peptonzusatz konstatieren wir wieder bei 46° C die größte Differenz zu Gunsten des Luftausschlusses; diese letztere verschiebt sich mit dem höheren Stickstoffgehalt nach unten und bleibt für die Mehrzahl der peptonhaltigen Molken bei 41° C. Im übrigen enthält die Tabelle eine Reihe von Beobachtungen, die nichts Neues bieten, aber willkommene Bestätigungen früherer Resultate darstellen.

6. Verhalten der bei Luftzutritt resp. -ausschluß säuernden Molken bei der Prüfung in regelmäßigen Zeitabschnitten.

Mit einer ersten Probe beabsichtigten wir, den Gärverlauf bei optimaler Temperatur zu studieren. Eine dem Käsekessel entnommene Molkenprobe wurde auf 28 Erlenmeyer-Kolben derart verteilt, daß die eine Hälfte mit Wasserstoff und die andere unter Luftzutritt angesetzt wurde. Sämtliche Proben setzten wir in ein großes Wasserbad

1) Siehe II. Teil, p. 48.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(ca. 50 l Wasser) ein. Die Temperatur wurde sorgfältig kontrolliert. Von 2 zu 2 Stunden entnahmen wir je eine unter Luftausschluß resp. -zutritt gestellte Probe und prüften sie auf die gebildete Säuremenge. Man erhält dadurch eine fortlaufende Reihe von Säuregraden, die ziemlich getreu den Fortgang der Milchsäuregärung in jedem einzelnen Probegefäß wiedergibt. Eine fortwährende Unterbrechung der Gärung durch kontinuierliche Titrierung aus ein und demselben Versuchsgefäß würde wahrscheinlich eine größere Beeinträchtigung der Zuverlässigkeit der Resultate nach sich gezogen haben, als die hier angewendete Methode.

Versuch No. 12.

Temperaturschwankungen 39,0—41,0° C. Mittlere Temperatur 40,2 ° C.

Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Molke														
nach Stunden	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
Luftausschluß	4,3	4,4	5,4	7,4	11,8	18,4	20,2	22,8	25,0	28,4	30,0	29,6	32,2	34,0
Luftzutritt	4,3	4,3	5,0	7,0	8,8	14,8	16,8	19,4	19,2	23,2	24,0	24,4	26,0	25,8
Differenz	0	0,1	0,4	0,4	3,0	3,6	3,4	3,4	5,8	5,2	5,0	6,2	6,2	8,2

Tabelle IV.

Verlauf der spontanen Milchsäuregärung für Käsereimolke bei Luftausschluß resp. -zutritt für die Temperatur von 46° C.

Säuregrad nach Stunden in Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ KOH pro 100 ccm Molke															
	Nach Stunden	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	42
Molke A	Mit Wasserstoff	4,4	5,2	10,3	14,7	23,6	29,1	34,6	36,8	38,7	42,3	41,7	44,2	47,1	48,6
Molke A	Mit Luft	4,4	5,9	11,1	16,2	19,8	24,3	27,6	31,6	31,3	36,3	37,5	39,0	40,1	42,7
Molke A	Differenz	0	— 0,7	— 0,8	— 1,5	+ 3,8	4,8	7,0	5,2	7,4	6,0	4,2	5,2	7,0	5,9
Molke B	Mit Wasserstoff	4,0	5,3	8,3	14,0	19,5	23,9	28,0	32,4	34,2	39,7	38,7	40,5	42,0	44,2
Molke B	Mit Luft	4,0	5,2	7,3	8,2	12,1	14,0	15,4	21,0	22,8	24,3	24,3	28,3	28,3	30,5
Molke B	Differenz	0	0,1	1,0	5,8	7,4	9,9	12,6	11,4	11,4	15,4	14,4	12,2	13,7	13,7

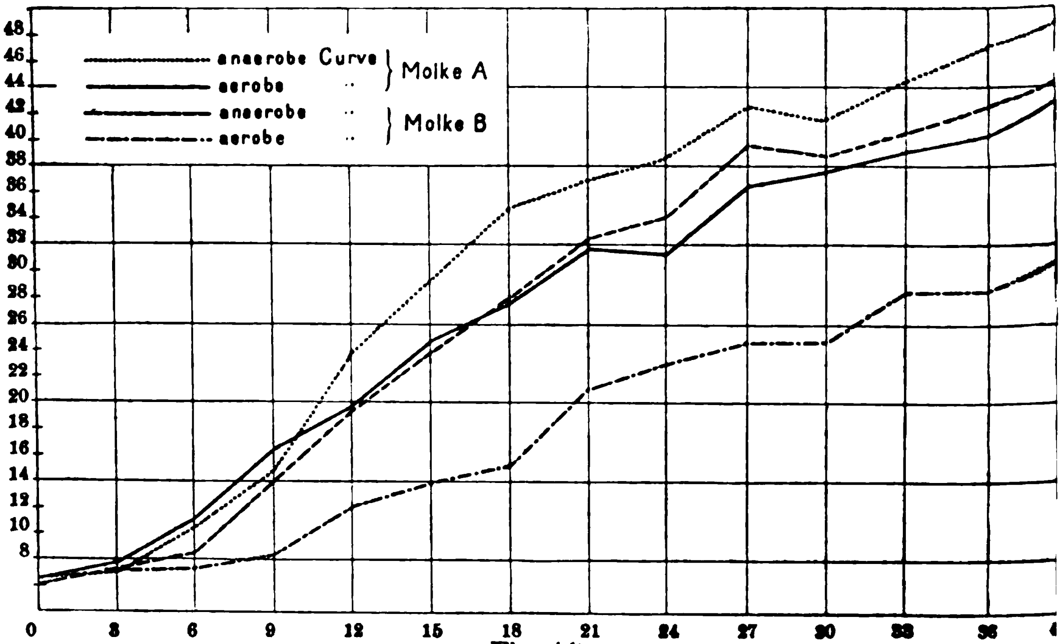


Fig. 4[1]).

1) Auf der Abscisse sind die Anzahl Stunden und auf der Koordinate die Säuregrade im Sinne obenstehender Tabelle IV aufgetragen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.
Verlauf der spontanen Milchsäuregärung für Käsereimolke bei Luftausschluß resp. -zutritt für die Temperatur von 36° C.

	Säuregrad nach Stunden in Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ KOH pro 100 ccm Molke													
nach Stunden	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	42
Mit Wasserstoff	4,4	4,8	8,1	12,2	16,2	19,5	23,6	26,9	30,5	36,1	36,3	39,2	43,1	46,7
Mit Luft	4,4	4,4	7,4	11,4	15,8	18,4	21,7	25,8	28,7	29,1	31,3	34,2	34,6	33,1
Differenz	0	0,4	0,7	0,8	0,4	1,1	1,9	1,1	1,8	7,0	5,0	5,0	8,5	13,6
Mit Wasserstoff	4,0	4,4	7,0	9,2	12,9	17,9	21,7	24,3	26,0	31,7	33,1	32,0	33,5	36,8
Mit Luft	4,0	4,4	7,0	9,2	11,8	16,2	19,9	23,7	25,1	28,0	29,4	30,5	33,3	36,1
Differenz	0	0	0	0	1,1	1,7	1,8	0,6	0,9	3,7	3,7	1,5	0,2	0,7

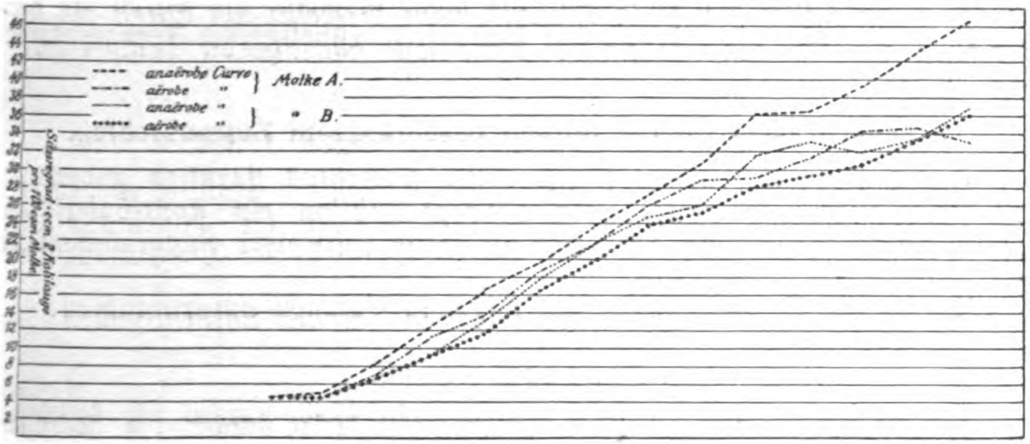


Fig. 5 [1]).

Anschließend folgen die Tabellen IV und V, die auf jene Temperaturen Rücksicht nehmen, welche den kleinsten resp. größten Einfluß des Luftausschlusses erzielten und sich auf eine etwas längere Versuchsdauer beziehen. Der Versuchsansatz geschah auf die soeben angegebene Art und Weise und diesmal jeweils mit der nicht gewärmten Molke A und der entsprechenden auf 56° C erwärmten Molke B.

Versuche No. 13 und 14 (siehe Tabelle IV und V).

Die Brauchbarkeit der Art des Versuchsansatzes wird durch den regelmäßigen Verlauf aller Kurven gerechtfertigt. Der Fortgang beider Gärungen in den Tabellen IV und V ist im allgemeinen ein analoger. Schon in den ersten Stunden beginnt (IV) eine Differenzierung des Säuregrades zu Gunsten der bei Luftausschluß gärenden Molkenproben, die langsam und gleichmäßig anwächst. Eine Abnahme ist nicht zu konstatieren.

Tabelle V, für die Temperatur von 36° C, zeigt die bekannten Verhältnisse. Besonders bis 24 Stunden ist die Wirkung des Luftausschlusses gleich null; das Gegenstück bietet in dieser Hinsicht Tabelle IV. Hier rücken die Kurven von Anfang an auseinander; auch die beiden Molkenproben sind in ihrem Verhalten etwas verschieden; auffallenderweise reagiert bei 36° C Molke A viel weniger auf die anaëroben Verhältnisse als Molke B, wie überhaupt für die nicht erhitzte Molke A die

1) Siehe Fußnote p. 132 entsprechend Tabelle V.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Temperatur in diesem Beispiele keine so große Rolle zu spielen scheint. Wir verzichten an dieser Stelle auf diesbezügliche Erklärungsversuche mit Rücksicht auf die Tatsache, daß das Endresultat des Gärungsprozesses im vorliegenden Fall auf der Tätigkeit eines in seiner Zusammensetzung nicht genauer kontrollierten Organismengemenges beruht. Die im II. Teil behandelten Gärversuche mit Reinkulturen werden Gelegenheit geben, auf diese und andere in der Rohkultur wahrgenommene Erscheinungen zurückzukommen.

Vergleichen wir nun die 8 Kurven der Tabelle IV und V miteinander, so ist bei 46° C für die Molke B mit Luftzutritt der schleppendste Gärverlauf zu konstatieren. Dann folgen die Kurven für 36° C, die sich alle zwischen die erstgenannte und die entsprechende anaërobe Kurve hineinlegen oder mit anderen Worten, es wird bei dieser auf 56° C erhitzten Molke bei der Versuchstemperatur von 46° C für die Gärintensität durch den Luftausschluß mehr erreicht, als durch die Anwendung der für die Gärung bei Luftzutritt günstigeren Temperaturen von 36° C.

7. Säuerungsverlauf bei zeitlich beschränktem Luftausschluß.

Die Behandlung dieser Frage sollte Aufschluß darüber geben, ob zur Erreichung der gesteigerten Säureproduktion ein kontinuierlicher Luftausschluß notwendig ist, oder ob schon zeitweiser Sauerstoffentzug den fraglichen Effekt auslöst.

Zu diesem Zwecke wurde der folgende Versuch unternommen:

Versuch No. 15.

Von der frischen, dem Käsekessel entstammenden Molke wurden wie üblich angesetzt:

28 Probekölbchen (Erlenmeyer) mit Wasserstoff (H-Kölbchen)
7 „ („) „ Luft (O- „)

Von den ersteren wurden bezeichnet (siehe Tabelle VI):

7 mit H_4 (a, b, c . . . g)
6 „ H_8 (h, i, k . . n)
5 „ H_{12} (o, p, q . s)
4 „ H_{16} (t, u, v, w)
3 „ H_{20} (x, y, z)
2 „ H_{24} (ä, ö)
1 „ H_{28} (ü)

Die Luftproben: O (4, 8, 12, 16, 20, 24 28).

Alle Proben gelangten zur gleichen Zeit in einen großen Temperierkasten. Nach 4 Stunden wurden alle mit H_4 bezeichneten Proben (a bis g) geöffnet und von H_4a und O_4 die Säuregrade bestimmt. Die einmal auf Säure geprüften Kulturen wurden immer wieder in den Temperierkasten zurückgebracht, damit in denselben von nun an bei jeder Versuchsunterbrechung der Säuregrad ermittelt werden konnte. Nach 8 Stunden wurden alle Proben H_8 (h bis i) geöffnet; wir bestimmten den Säuregrad von H_8h; H_4b war nun seit 4 Stunden unter Luftzutritt und wurde ebenfalls auf Säure titriert, wie auch O_8 und O_4. Nach 12 Stunden öffneten wir die Proben H_{12} (o bis s) und untersuchten auf Säuregrad: H_4c, H_4b, H_4a, H_8i, H_8h, H_{12}o, O_4, O_8, O_{16} u. s. w.

Wir mußten davon absehen, die Probe jedesmal für die Säurebestimmung auf 15° C abzukühlen, da dadurch größere Fehlerquellen entstanden wären, als beim geübten Verfahren der Titrierung bei der Versuchstemperatur; für den Vergleich untereinander sind die Säurezahlen einwandslos gültig. Für die mehrfach benutzten Proben wurden nur 10 ccm Molke zur Säurebestimmung verwendet.

Stellen wir nun die Resultate im Sinne unserer Versuchsanordnung zusammen (Tabelle VI), so erhalten wir in den fett gedruckten Zahlenreihen den Säuerungsverlauf bei ununterbrochenem Luftausschluß resp. -zutritt; sodann in den schräg gedruckten Zahlen den Gärverlauf bei Unterbrechung des Luftausschlusses nach 4, 8 etc. Stunden. Die senkrechten Zahlenreihen geben die Säuerungskurve für jede einzelne Kulturprobe bei wiederholtem Gebrauch derselben zur Titrierung an.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

Spontane Milchsäuregärung bei Luftausschluß resp. -zutritt, sowie bei Lüftungswechsel und bei wiederholtem Gebrauch der gleichen Kulturprobe zur Titrierung.

Temperaturschwankungen: 46,5°—48,0° C.
Mittel: 47,4° C.
Säuregrad der frischen Molke: 4,2.
Versuchsdauer: 28 Stunden.

nach Stunden	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Molke, der 28 Proben mit Luftausschluß angesetzt. Proben geöffnet nach																												7 Proben mit Luftzutritt angesetzt. Säuregrade						
	4 Std. H_4							8 Std. H_8						12 Std. H_{12}					16 Std. H_{16}				20 Std. H_{20}			24 Std. H_{24}		28 Std. H_{28}	O						
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v	w	x	y	z	ä	ö	ü	4	8	12	16	20	24	28
4	**11,3**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	**10,2**	.	.	.	.	.	.
8	23,0	*20,0*	.	.	.	.	.	**20,5**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	17,0	**15,5**	.	.	.	.	.
12	28,0	26,0	*25,0*	.	.	.	.	25,0	*26,5*	.	.	.	.	**24,5**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	21,5	18,0	**20,0**	.	.	.	.
16	34,0	32,5	30,5	*31,4*	.	.	.	31,0	32,0	*32,0*	.	.	.	31,0	*31,5*	.	.	.	**31,5**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	24,5	23,5	24,5	**23,0**	.	.	.
20	40,0	36,0	36,0	35,5	*36,5*	.	.	34,0	34,5	34,5	*36,0*	.	.	33,0	34,0	*34,0*	.	.	34,0	*35,0*	.	.	**36,5**	.	.	.	.	.	28,0	26,0	28,0	27,0	**26,0**	.	.
24	41,0	38,0	37,0	37,0	38,0	*38,0*	.	37,0	37,0	37,0	38,0	*38,0*	.	37,0	37,0	38,0	*37,0*	.	36,0	38,5	*40,0*	.	40,0	*38,0*	.	**38,0**	.	.	31,0	28,0	28,0	28,0	29,0	**28,5**	.
28	43,0	42,0	41,0	41,0	42,5	42,0	*41,0*	40,0	40,0	40,0	42,0	43,0	*42,0*	40,0	40,0	40,0	40,0	*41,0*	40,0	41,0	41,0	*42,0*	42,0	40,0	*42,0*	43,0	*44,0*	**46,0**	33,0	34,0	31,5	33,0	32,0	32,0	**32,5**

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Dieser Versuch zeigt uns recht instruktiv, daß schon ein 4-stündiges Verweilen der Molken unter Luftausschluß diese befähigt, dieselbe Säuerungsintensität zu erreichen, wie die während des ganzen Versuches unter Luftausschluß verweilenden Proben. Die Steigerung im Gärvermögen zu Gunsten der anaëroben Verhältnisse ist eine erhebliche. Andererseits dürfte aus der Tabelle hervorgehen, daß man ohne Bedenken durch wiederholte Titration ein und derselben Kultur den Säuerungsverlauf verfolgen könnte.

Resumé.

1) Ein fördernder Einfluß der künstlichen Luftzufuhr durch Schütteln auf die in den Molken der Emmentalerkäsereien auftretende spontane Milchsäuregärung konnte nicht konstatiert werden.

2) Durch Luftausschluß hingegen wird die Säuerungsintensität der Molke gesteigert, und es scheint dies eine konstante Eigentümlichkeit der Käsereimolken zu sein; immerhin ist für die Größe der fördernden Wirkung des Luftausschlusses die Versuchstemperatur von bestimmender Bedeutung; das Minimum des fraglichen Einflusses liegt bei 36° C und das Maximum bei 46—48° C.

3) Auf die unter Punkt 2 genannten Verhältnisse ist der Stickstoffgehalt der Nährlösung insofern von Einfluß, als mit zunehmendem Stickstoffgehalte die Zone der größten Wirkung des Luftausschlusses auf niedrigere Temperaturen verschoben wird.

4) Zur Erlangung der bei Luftausschluß konstatierten Erhöhung der Säuerungsintensität genügt ein anfänglicher, kurzfristiger Luftabschluß; die Veranlagung der Molke zu einer gesteigerten Gärtätigkeit scheint sich bei Luftabschluß in den ersten Anfängen der Gärung auszubilden, um dann, unabhängig vom Luftzutritt, die erlangte Tendenz beizubehalten.

II. Teil.

Versuche über den Verlauf der Milchsäuregärung in geeigneten Nährlösungen bei Verwendung von Reinkulturen unter dem Einflusse eines absichtlich hervorgerufenen wechselnden Luftzutrittes.

Nachdem wir im ersten Teil zeigen konnten, daß ein Einfluß des Luftsauerstoffes auf den Verlauf der Milchsäuregärung bei dem von uns gewählten spontan säuernden Substrate tatsächlich besteht, wird es unsere weitere Aufgabe sein, zu untersuchen, ob sich auch an entsprechenden Reinkulturen die gemachten Beobachtungen wiederholen lassen, und ob auf Grund eingehender Studien mit diesen letzteren ein einigermaßen klares Bild in Bezug auf unsere Hauptfrage geschaffen werden kann.

1. Allgemeine Versuchsanordnung.

a) Versuchsorganismen.

α) Wahl der Versuchsorganismen.

An die zu wählenden Organismen glaubten wir folgende Anforderungen stellen zu müssen:

1) Es sollten typische Erreger einer spontanen Milchsäuregärung sein.

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

2) Sie sollten auf den künstlichen Nährböden eine möglichst reine, von Nebengärungen freie, kräftige Milchsäuregärung durchzuführen im stande sein.

3) Sie sollten in kurzer Zeit eine relativ große Säuremenge produzieren können.

Die Erfüllung der letzten Bedingung ist wichtig, weil sich darin eine weniger große Empfindlichkeit des betreffenden Organismus gegenüber der produzierten Milchsäure kundgibt, ein Umstand, der im Interesse der Erlangung klarer Versuchsergebnisse von großer Bedeutung ist.

Es lag auf der Hand, als ersten Typus den hauptsächlichsten Erreger der spontanen Milchgerinnung das Bacterium Güntheri = Bact. lactis acidi Leichmann zu wählen.

In zweiter Linie entschieden wir uns für einen Repräsentanten der von v. Freudenreich und Thöni (14) beschriebenen langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien. Die Arbeiten der genannten Autoren und besonders eine von Thöni (16) vor kurzem gemachte Veröffentlichung lassen nun von diesen hauptsächlich den Bacillus casei ε in den Vordergrund treten, weil diesem Organismus für die Gärung des Käsereilabes und damit auch der Käsemolke und des Käses eine hervorragende Rolle zukommt. Dieser Organismus, wie auch der erstgenannte, bildet also einen charakteristischen Bestandteil der im I. Teil zum Studium des Säuerungsverlaufes benutzten Rohkulturen.

β) Isolierung der Versuchsorganismen.

Bacterium Güntheri: Aus bei 30° C gesäuerter Marktmilch wurden nach Burri (18) Anaërobenkulturen mit Milchzuckeragar in drei verschiedenen Verdünnungen angelegt und zu 30° C gestellt. Nach 24—36 Stunden kamen die stecknadelkopfgroßen Kolonieen der passendsten Kultur zur mikroskopischen Prüfung. Wir trafen fast regelmäßig mindestens ein starkes Vorherrschen von in morphologischer Hinsicht der Art des Bacterium Güntheri entsprechenden Kurzstäbchen. Aus 3—4 Kolonieen der typischsten Formen wurden wieder oben genannte Kulturen angesetzt, und von den herangewachsenen Reinkulturen gelangten zwei mikroskopisch geprüfte Kolonieen zur Verimpfung auf Milch und Milchzuckeragar als Stich. Die beiden ursprünglich aus zwei verschiedenen Kolonieen stammenden Kulturen wurden für die Versuche verwendet, solange sie im stande waren, die Milch bei 30° C mindestens in 20 Stunden zum Gerinnen zu bringen. Die isolierten Organismen erhielten fortlaufende Bezeichnungen.

Bacillus casei ε (v. Freudenreich). Aus einem ca. 36 Stunden alten sogenannten „Naturlab" der Emmentalerkäserei wurden ebenfalls, wie oben, Anaërobenkulturen angelegt. Nach ca. 48 Stunden bei 40° C wird die geeignetste Kultur für die mikroskopische Prüfung vorbereitet, wobei die mit kräftiger Trübungszone umgebenen Kolonieen besondere Berücksichtigung fanden. Es wurden vorwiegend Langstäbchen gefunden und zwar zwei anscheinend verschiedene Formen. Die breitere Form mißt 0,8—0,9 μ und die schmälere 0,6—0,7 μ in der Breite; in der Länge sowohl wie im sonstigen morphologischen Verhalten konnte kein durchgreifender Unterschied konstatiert werden. 3—4 Kolonieen des breiteren Organismus brachten wir wiederum in Milchzuckeragarkultur, und diejenigen Kolonieen der herangewachsenen Reinkulturen wurden in Milch und Milchzuckeragar als Stich verimpft, die sich bei der mikroskopischen Kontrolle als typisch und rein auswiesen. Trat in der Milch

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

nach weniger als 24 Stunden bei 40—42 ° C eine Gerinnung ein, so kam die betreffende Kultur für die nächsten Versuche zur Verwendung.

γ) Identifikation der Versuchsorganismen.

Unsere Absicht war anfänglich, sämtliche Versuche mit den gleichen zu Beginn der Versuchszeit isolierten Reinkulturen anzustellen. Die starke Neigung beider Organismen zur Degeneration, die sich in einem Rückgang der Säuerungskraft ausdrückte, zwang uns, von diesem Gedanken abzustehen. Wichtiger noch als die Vorteile, die für die Verwendung ein und derselben Kultur sprachen, schien uns die Verwendung möglichst säuerungskräftiger Kulturen. Schon nach 3 Wochen äußerte sich manchmal eine starke Depression der Virulenz. Versuche, die letztere durch Fortzüchtung auf geeigneten Nährböden zu erhöhen, waren erfolglos. In dieser Eigenschaft der Versuchsorganismen, in kurzer Zeit an Gärkraft bedeutend einzubüßen, boten sich erhebliche Schwierigkeiten für unsere Versuchstätigkeit. Eine wiederholte Isolierung gärkräftiger Organismen war unumgänglich.

Zur sicheren Identifikation wurde die für die Versuche verwendete Kultur auf ihr morphologisches und kulturelles Verhalten auf den gebräuchlichsten Nährböden geprüft.

Unsere Bacterium Güntheri a, b, c, d, e und f unter sich gleich, stimmen in den Merkmalen mit dem unter dem genannten Namen bei Lehmann und Neumann (19) beschriebenen überein, dürften also mit demselben identisch sein.

Die unter dem Namen Bacillus casei ε A, B, C, D, E, F von uns beschriebenen Organismen zeigen im großen und ganzen das gleiche Verhalten wie derjenige, den v. Freudenreich und Thöni (14) unter diesem Namen kennen lehrten. Einzig in der Säuerungskraft, sowohl in Milch als auch in Peptonschotte konstatierten wir teilweise bedeutende Differenzen. So finden genannte Autoren nach 2 Tagen für Bacillus casei ε R eine Acidität, die gleichkommt 0,7 ccm $\frac{n}{4}$ Kalilauge auf 100 ccm Peptonschotte, während nach unseren Erfahrungen die Zahl 30,0 für 30 ° C eingesetzt werden könnte. Interessant ist in zitierter Tabelle der große Unterschied in der Säureproduktion von Bacillus casei ε R einerseits und Bacillus casei ε M andererseits; ersterer erreicht nach 75 Tagen einen Säuregrad von 48,0 (unsere gleichbenannten Organismen nach mindestens 48 Stunden den gleichen) und Bacillus casei ε M nur 9,0. Auch haben wir an unsere Organismen die Bedingung gestellt, daß sie bei 40 ° C in mindestens 24 Stunden die Milch gerinnen lassen, während die obengenannten Verfasser (p. 542) 2—3 Tage für die gleiche Temperatur als Gerinnungsdauer bestimmten. Trotz dieser großen Unterschiede können wir uns nicht dazu verstehen, unsere Organismen nicht als identisch mit obengenannten Verfassern unter dem Namen Bacillus casei ε beschriebenen zu bezeichnen; wir glauben vielmehr, daß v. Freudenreich und Thöni keine frisch isolierten Kulturen zur Messung ihrer Aciditätskraft zur Hand gehabt haben. (Beschreibung siehe am Schlusse).

b) Nährboden.

Wie im ersten Teil erwähnt, bietet die Käsemolke in ihrer natürlichen Zusammensetzung einen vorzüglichen Nährboden für Milchsäurebakterien. Ein schwacher Punkt bei Benutzung dieser Flüssigkeit für

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reinkulturen der genannten Organismen liegt nun aber in ihrer relativen Armut an assimilierbaren Stickstoffsubstanzen. Zudem geht beim Sterilisieren des Nährbodens das Albumin in Fällung und damit beim Filtrieren für die Kulturen verloren. Infolgedessen kommt für die in Bezug auf Stickstoff sehr anspruchsvollen Milchsäurebakterien ein Ersatz dieses Nährstoffes in Betracht. Wie schon oben erwähnt, ist Pepton einer der vorzüglichsten Stickstoffquellen für die hier in Betracht fallenden Organismen.

Gestützt auf diese Ueberlegung stellten wir nun den Nährboden folgendermaßen her:

Ca. 5 Liter frischer Milch brachten wir in einem großen Emailgeschirr bei 35—40° C mit Labextrakt zur Gerinnung. Das solide Koagulum wurde nun mit einem Glasstabe kreuz und quer durchschnitten und dann langsam gerührt, bis die ausgeschiedenen Bruchstückchen die Größe von Haselnüssen hatten. Die langsam auf 55—60° C erhitzte, durch Sieben vom Parakasein befreite Schotte wurde nun im Dampftopfe auf 70—80° C erhitzt; dann setzten wir so lange tropfenweise von einer 10-prozentigen Milchsäure zu, bis das Albumin sich in grünlichgelber, vollständig klarer Molke grobflockig ausschied. Uebereinstimmend mit den Beobachtungen in der Käsereipraxis erwies sich diese letztere Operation als diejenige, von deren sorgfältiger Ausführung die Ausscheidung einer klaren Schotte abhing. Ein Ueberschuß an Milchsäure, wie ein zu wenig, haben trübe Molke im Gefolge. In diesen beiden letzteren Fällen hatten wir bei der weiteren Behandlung des Nährbodens Schwierigkeiten, denselben klar zu erhalten. Der Erwähnung wert ist fernerhin die Tatsache, daß bei sorgfältiger Innehaltung der hier beschriebenen Operationen zu bestimmten Zeiten (besonders bei sehr heißer Witterung) die Gewinnung einer klaren Schotte unmöglich schien; solche Nährböden erwiesen sich nachträglich für die Reinkulturen unvorteilhaft; alles Beobachtungen, die sich mit ähnlichen, in der Käsereipraxis längst gemachten Erfahrungen decken. Die Schotte mit ausgefälltem Albumin seihten wir durch ein Leinwandtuch und das Geseihte wurde $^1/_2$ Stunde bei $^3/_4$ Atmosphären Ueberdruck im Autoklaven sterilisiert. Noch heiß fand der Zusatz der berechneten Peptonmenge (Peptonum siccum, Witte) statt, und dann kam die im Dampftopf noch $^1/_4$ Stunde auf 98° C erhitzte Peptonschotte zur Filtration in sterile Glaskolben. Der vollkommen klare Nährboden konnte, nachdem abgekühlt, in die verschiedenen im Autoklaven sterilisierten Versuchsgefäße verteilt werden, in welchen er kurz nachher noch einmal $^1/_4$ Stunde im strömenden Dampf verblieb. Auf diese Weise gelang es, einen gleichmäßigen, für unsere Organismen vorzüglichen, vollkommen klaren, leicht titrierbaren und absolut sterilen Nährboden zu erhalten, der selbst nach wiederholtem Erhitzen nicht die mindeste Trübung aufwies.

c) Versuchsansatz.

Art und Form der Versuchsgefäße werden für jeden Versuch besonders angeführt.

Als Impfmaterial dienten 12—36 Stunden alte Milch- oder Peptonschottenkulturen, und zwar wurde immer wieder auf die ursprüngliche Kultur zurückgegriffen; einmal, um die mit der successiven Verimpfung verbundene Infektionsgefahr zu umgehen und ferner, weil bei zuletzt genannter

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gepflogenheit für ein und denselben Nährboden starke Schwankungen in der Säureproduktion für den gleichen Organismus konstatiert werden konnten, was in Kürze folgende Zusammenstellung veranschaulichen mag:

Nährboden: Stets die gleiche 1-proz. Peptonschotte.
Impfkultur: Bacillus casei ε C aus sehr verschieden alten Milchkulturen. (2—56 Tage alt).
Versuchsgefäße: Große Reagenzgläser à 25 ccm Nährlösung, 60—70 mm Flüssigkeitshöhe.
Versuchstemperatur: 42° C.
Impfung: Nach 48 Stunden wird immer wieder in je ein frisches Kulturglas weiter geimpft, und dann in der verimpften Kultur der Säuregrad bestimmt.

Kultur-No.	ccm $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Kultur. Die xte Ueberimpfung.					
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
I	34,8	33,2	31,2	26,8	32,8	34,8
II	40,0	33,4	32,0	23,2	24,0	36,0
III	44,4	38,0	31,2	24,8	42,4	50,4
IV	44,4	40,0	30,0	25,6	33,2	32,0
V	36,5	35,0	31,6	26,8	42,4	50,4

Zum Impfen bedienten wir uns einer Platinöse.

Die für den Thermostaten bestimmten Proben wurden vor dem Ansatz im Wasserbade auf die betreffende Temperatur gebracht. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß diese im Interesse einer gleichmäßig schnellen Erwärmung gebrauchte Maßnahme von großem Einfluß auf das Resultat sein kann; solche Proben sind den nicht temperierten um 3—4 Stunden voraus.

Als Maß der Säuerungsintensität diente wiederum die in bestimmten Zeitintervallen produzierte Gesamtsäuremenge; letztere wird angegeben durch den Säuregrad der Kultur. Der Säuregrad versteht Kubikcentimeter verbrauchte $\frac{n}{4}$ Kalilauge zur Neutralisation von 100 ccm Kultur auf Phenolphtalein als Indikator.

Zur Kontrolle wurde für jeden Versuch mindestens eine ungeimpfte Probe der gleichen Behandlung unterzogen und zuletzt auf Keimfreiheit geprüft. Am Schlusse des Versuches wurden Stichproben und besonders diejenigen Kulturen, die etwas verdächtig schienen, mikroskopiert und auf Reinheit geprüft.

2. Einfluß des Stickstoffgehaltes des Nährbodens auf die Säuerungsintensität.

Da es für unsere Versuche Bedingung ist, eine möglichst kräftige Gärung zu erhalten, so mußte es unser Bestreben sein, dem Nährboden die denkbar günstigste Zusammensetzung zu geben. Da aber andererseits bei zu hohen Peptonzusätzen ohne Zweifel die Säurebestimmung ungenau wird, so sollten zuerst noch einige Fragen, den Nährboden betreffend, gelöst werden.

Einmal wurde beobachtet, daß sich nach dem Zusatz des Peptons zur klaren Schotte immer eine mehr oder weniger starke Ausscheidung zeigte. Diese letztere bestand selbstverständlich aus stickstoffhaltigen Substanzen, so daß sich in der filtrierten Nährlösung nicht der dem Peptonzusatz entsprechende Stickstoff wiederfand, und es war nun von

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Interesse, zu untersuchen, ob die Menge des ausgeschiedenen Stickstoffes annähernd im Verhältnis zum Peptonzusatz stand.

Zu diesem Zwecke stellten wir 11 Nährlösungen her aus Milch mit aufsteigenden Peptonzusätzen von 0 bis 2,0 Proz. Die zugesetzten Peptonmengen wurden durch Differenzwägung im Wägegläschen auf der Präzisionswage abgewogen. Die klaren Peptonschotten wurden nun einer näheren chemischen Analyse unterworfen, und zwar sollte die letztere bestehen in der Bestimmung des Gesamtstickstoffes, der durch Phosphorwolframsäure fällbaren protein- und peptonähnlichen Stoffe und des „Amidstickstoffes".

Dies geschah, wie folgt:

a) Gesamtstickstoff. 10 ccm der klaren, auf 15° C temperierten Nährschotte werden in einem langhalsigen Hartglaskolben mit 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure und einer Messerspitze CuO nach Kjeldahl verbrannt. Um das starke Schäumen der peptonreichen Nährböden etwas einzuschränken, wurden die Kolben über kleiner Flamme fortwährend geschüttelt, bis die kohlschwarze Flüssigkeit in ein gleichmäßiges Sieden übergegangen war. Nach Beendigung der Verbrennung wurde das Ammoniak in vorgelegte $\frac{n}{4}$ Salzsäure überdestilliert; durch Zurücktitrieren der letzteren erhielten wir auf dem Wege einer nachfolgenden Rechnung die Menge des übergegangenen Stickstoffes; letztere wurde auf 1000 ccm Nährlösung berechnet.

b) Stickstoff der protein-plus peptonähnlichen Stoffe. 10 ccm (resp. 5 ccm) Nährlösung wurden im Becherglase mit 100 ccm Wasser verdünnt, mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure im Ueberschuß versetzt. Die voluminöse, nach 12 Stunden zu Boden gesetzte Fällung wurde durch Dekantation mit 5-proz. Schwefelsäure ausgewaschen, zuletzt auf ein Filter gebracht und mit demselben nach Kjeldahl verbrannt.

c) Amidstickstoff. Berechnet durch Subtraktion a—b.

Der Versuchsansatz geschah, wie folgt:

Versuch No. 16.

Nährboden: Peptonschotten mit aufsteigendem Peptongehalt 0—2,0 Proz.
Impfkultur: Bacillus casei ε A. Bacillus casei ε B.
Versuchstemperatur: Schwankungen 47,0—48,2 36,0—38,5° C. Mittel: 47,2 37,5° C.
Probegefäße: Große Reagenzgläser (25 ccm Nährboden). Höhe der Flüssigkeitsschicht 60—70mm.
Versuchsdauer: 30 Stunden.

(Siehe Tabelle p. 142.)

Der durch die Analyse gefundene Stickstoffgehalt entspricht bei den meisten Nährböden nicht dem jeweils zugesetzten Peptonstickstoff. Mit steigenden Peptongaben wird auch der Gehalt an Amidstickstoff erhöht, ebenso, oder vielleicht infolgedessen der Säuregrad der frischen Nährlösung.

Im Gärversuch zeigen besonders die Säuregrade der verschiedenen Kulturen bei 48° C eine Steigerung mit zunehmendem Stickstoffgehalt des Nährbodens, während bei 37° C diese Erscheinung weniger deutlich zu Tage tritt. Eine Erklärung dafür liegt darin, daß die Temperatur von 48° C etwas zu hoch gewählt war; es kommt nun der schädigende Einfluß derselben bei der Gärung um so mehr zum Ausdruck, je ärmer

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährboden No.	Berechnete Menge Gesamtstickstoff in Gramm im Liter: (Molke plus Pepton)	Peptonzusatz pro Mille	Säuregrad des ungeimpften Nährbodens	Durch Analyse gefunden: Gesamtstickstoff Gramm i. Liter	Durch Analyse gefunden: Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff Gramm i. Liter	Durch Analyse gefunden: Amidstickstoff (berechnet) Gramm i. Liter	Säuregrad nach 30 Stunden: Bac. casei ε a 37° C	Bac. casei ε a 48° C	Bac. casei ε b 37° C	Bac. casei ε b 48° C
I	[1] 0,0694	0	4,0	0,0694	0,0402	0,0292	14,4	5,2	16,0	5,6
II	0,0935	0,2	6,0	0,0760	0,0402	0,0365	16,6	8,4	18,4	7,2
III	0,1297	0,5	6,0	0,0829	0,0438	0,0391	16,6	9,2	18,4	9,2
IV	0,1901	1,0	6,0	0,0853	0,0475	0,0378	20,4	8,8	18,8	8,4
V	0,2388	1,4	6,0	0,0913	0,0584	0,0329	22,4	10,8	21,6	12,0
VI	0,3108	2,0	6,0	0,1096	0,0511	0,0585	19,8	10,8	26,8	10,4
VII	0,5522	4,0	7,0	0,1077	0,0548	0,0529	22,4	13,2	21,2	12,8
VIII				Nährboden verunglückt						
IX	1,0350	8,0	8,5	0,1614	0,0693	0,0920	22,0	14,0	24,4	14,0
X	1,2764	10,0	9,6	0,1881	0,0584	0,1297	25,8	15,5	23,4	16,0
XI	2,4834	20,0	12,2	0,2104	0,0526	0,1578	23,5	17,2	23,2	17,8

1) Stickstoffgehalt des verwendeten Peptonpräparates = 12,07 Proz.

der Nährboden an Stickstoff ist. Bei der günstigeren Versuchstemperatur von 37° C tritt indessen die Abhängigkeit der Säuerungsintensität vom Stickstoffgehalt in den Hintergrund.

Resumé.

1) In den fertigen, klaren Nährlösungen stehen dem betreffenden Organismus bei weitem nicht die der zugesetzten Peptonmenge entsprechenden Stickstoffgaben zur Verfügung, was für ähnliche Untersuchungen mindestens die Bestimmung des Gesamtstickstoffgehaltes zur notwendigen Voraussetzung macht.

2) Durch größere Peptonzusätze (über 4 pro Mille) kann der Säuregrad der frischen Nährlösung bedeutend gesteigert werden.

Für die Auslösung einer kräftigen Milchsäuregärung spielt nicht nur die Virulenz der Kultur, der Stickstoffgehalt der Nährlösung und die Temperatur als solche eine wichtige Rolle, sondern auch die Art des Zusammenwirkens aller dieser Faktoren, und es mußte für unsere spätere Versuchsanordnung von Bedeutung sein, vorerst diese Verhältnisse so umfangreich als möglich studiert zu haben.

Wir stellten uns infolgedessen als nächste Aufgabe, zu prüfen, welchen Einfluß die zwei wichtigsten Faktoren, Temperatur und Stickstoffgehalt des Nährbodens in ihren Wechselbeziehungen zu einander auf die Milchsäuregärung ausüben. Vielleicht gelang es uns auch, auf diesem Wege die wichtige Frage zu entscheiden, ob nicht bei den peptonreichsten Nährböden ein Teil der gewöhnlich titrierten Gesamtsäure auf Rechnung einer Säureabspaltung aus dem Pepton zu setzen ist.

Schon Kayser (6) wies nach, daß Milchsäurebakterien im stande sind, aus peptonisiertem Hühnereiweiß Milchsäure abzuspalten.

Ausgehend von der gleichen Milch, stellten wir nun 6 Nährlösungen mit den Peptonzusätzen 0,5, 1,0, 3,0, 6,0 10,0 und 30,0 pro Mille her. Diese wurden wiederum analysiert. Da 11 verschiedene Temperaturen berücksichtigt werden sollten, schieden wir den Versuch in zwei Teile, von denen der erste die Temperaturen 52—35° C und der zweite die-

Generated on 2019-09-21 16:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

jenigen von 32—23° C umfaßte. Zur Verimpfung kamen zwei verschiedene Organismen, und zwar aus der gleichen Gruppe der Langstäbchen, nämlich Bacillus casei ε A und Bacillus casei ε B. Die Nährlösungen waren à 25 ccm in großen Reagenzgläsern (Flüssigkeitshöhe 65—70 mm) verteilt und steril. Für den ersten Teilversuch à 6 Temperaturen wurden von jedem Nährboden 6 Proben mit Bacillus casei ε A und ebenso viele mit Bacillus casei ε B aus einer 20 Stunden alten Peptonschottenkultur geimpft. Die geimpften Proben wurden nun so auf die bereits temperierten 6 Wasserbäder verteilt, daß jedes der letzteren je eine Kultur jeder der beiden Organismen (in jedem der 6 Nährböden eingeimpft) erhielt. Auf diese Weise wurde auch der zweite Teilversuch angesetzt und zwar mit den gleichen Nährlösungen und der gleichen Impfkultur. Durch sorgfältige häufige Kontrolle konnten die Temperaturen sehr konstant gehalten werden, was für diese Versuche von großer Wichtigkeit zu sein schien. Wir geben deshalb auch in den bezüglichen Tabellen sowohl die Maximalschwankungen, als auch die Anzahl der Beobachtungen und die Mittelzahlen der Temperaturen an. Nach 30 Stunden wurden die Versuche unterbrochen, und während die Proben im laufenden Leitungswasser standen, kamen sie zur Prüfung auf den Säuregrad.

In der Bestimmung des letzteren ließen wir diesmal eine kleine Spezifizierung eintreten. Daß der Säuregrad, auch der ungeimpften Nährlösung, mit steigendem Peptonzusatz erhöht wird, geht aus dem vorhergehenden Versuch hervor. Wir sprachen schon oben die Ansicht aus, es möchte dafür der ebenfalls gesteigerte Gehalt an Amidstickstoffsubstanzen verantwortlich gemacht werden dürfen; sicher aber ist, daß diese Säurevermehrung dem zugesetzten Pepton entstammt.

Titriert man nun die verschiedenen Peptonschotten zuerst bis zum Verschwinden jeder Reaktion auf empfindliches Lackmuspapier (Tupfmethode), so bleibt zugesetzte Phenolphtaleinlösung noch ungefärbt; man kann sogar noch ziemlich viel Kalilauge zusetzen, ohne daß Reaktion auf Phenolphtalein eintritt (auch rotes Lackmuspapier bleibt noch unverändert). Es ist dies ein Zeichen, daß immer noch keine freien OH-Ionen vorhanden sind, das heißt, die zugesetzte KOH wird noch immer neutralisiert; schließlich tritt dann Rotfärbung ein. Diese betreffenden nicht auf Lackmus, wohl aber auf Phenolphtalein reagierenden Säuren entstammen zum größten Teil dem Pepton [1]), sind schwach dissoziiert und gehören höchstwahrscheinlich dem Amidstickstoff an (Amidosäuren). Wir haben demnach mit diesem Titrierverfahren ein Mittel in der Hand, um die stark dissoziierten Säuren (Milchsäure, flüchtige Fettsäure etc.) getrennt von den auf Lackmus nicht reagierenden, dem Pepton entstammenden Säuren zu bestimmen, und wir können uns durch Anwendung dieser Methode einige Anhaltspunkte verschaffen zur Beantwortung der Frage, ob im gefundenen Säuregrad der Kultur ein größerer oder kleinerer Teil dem Pepton entstammender Säuren inbegriffen sei.

Wir titrierten infolgedessen, wie folgt: Der Kultur wurde die übliche Menge 2-proz. Phenolphtaleinlösung zugesetzt, und nun titrierten wir mit $\frac{n}{4}$ Kalilauge, bis keine Veränderung des mit Nährlösung betupften empfindlichen Lackmuspapiers mehr konstatiert werden konnte. Der aus

1) Eine 1-proz. wässerige Peptonlösung zeigte einen Säuregrad auf Lackmus von 0,6, einen solchen auf Phenolphtalein von 6,2.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieser Titermenge auf übliche Weise berechnete Säuregrad wurde notiert. Dann wurde weiter titriert bis zur bekannten Rosafärbung des Phenolphtaleins. Die seit der vorigen Notierung titrierte Säuremenge, auf Säuregrad berechnet, entspricht nun den auf Lackmus nicht reagierenden, meist dem Pepton entstammenden Säuren. Beide gefundenen Säuregrade addiert, ergibt den Gesamtsäuregrad.

Wir haben die interessanten Resultate dieser Versuche sowohl tabellarisch als auch in Form von Kurventafeln zur Darstellung gebracht.

Siehe Tabellen VII und VIII für Versuche No. 17 und 18.

Die Steigerung der Säuerungsintensität mit jeder Erhöhung des Stickstoffgehaltes der Nährlösung wird durch beide Tabellen mit auffallender Regelmäßigkeit gezeigt. Das Temperaturoptimum ist nicht in allen Nährlösungen das gleiche, sondern es richtet sich nach dem Gehalt an löslichem Stickstoff, und zwar ist das Maximum der Säuerungsintensität bei um so höherer Temperatur, je stickstoffärmer der Nährboden ist. Vielleicht werden bei höherer Temperatur in den peptonreichen Nährböden zu viel die Milchsäurebakterien schädigende Stoffwechselprodukte abgespalten, eine Annahme, die weiter unten eine Stütze finden wird. Es zeigt dies, wie wichtig es ist, bei der Angabe des Temperaturoptimums für eine bestimmte Funktion eines Organismus die zu Grunde liegenden Nährverhältnisse anzugeben. Im übrigen ist der Verlauf der Kurven ein übereinstimmender. Nach einem ziemlich steilen Aufstieg von den höheren Temperaturen abwärts ergibt sich ein in allen Kurven scharf ausgeprägter Höhepunkt, dem dann ein rasches Abflachen folgt. Die günstigsten Temperaturen für Bac. casei ε liegen demnach von 35° C aufwärts, und selbst bei 52° C findet eine schwache Milchsäuregärung statt. Von 35° C abwärts wird die Temperatur für die Gärtätigkeit dieses Organismus auffallend schnell ungünstig, so daß unter 30° C schon keine wesentliche Säurebildung mehr nachgewiesen werden konnte.

Auch in den Resultaten dieser Versuche liegt eine Bestätigung dafür, daß mit steigendem Peptongehalt der Säuregrad erhöht wird, und zwar wird es hier deutlicher veranschaulicht, daß dies zur Hauptsache auf Rechnung des Amidstickstoffes geschieht. Im gleichen Sinne wächst die Menge der auf Lackmus nicht titrierbaren Säuren. Mit erwünschter Deutlichkeit geht aus den Differenzzahlen hervor, daß während der Gärung im allgemeinen die Menge dieser letztgenannten Säuren zunimmt und zwar für die stickstoffreichsten Nährlösungen in einem Grade, der den Gesamtsäuregrad stark beeinflussen muß, ja von diesem sogar die Hälfte ausmachen kann. Bedenken wir ferner, daß es keineswegs ausgeschlossen ist, daß während der Gärung, wie es von Kayser für Milchsäure schon nachgewiesen ist, aus dem Pepton auch noch andere, auf Lackmus reagierende Säuren (Bernstein-, Propion-, Essigsäure etc.) abgespalten werden könnten, so führt dies zu der Vermutung, daß von einem bestimmten Peptonreichtum an die Erhöhung der Säuerungsenergie, ausgedrückt im Gesamtsäuregrad, nur eine scheinbare ist, und dies besonders für die höheren Temperaturen. Daß diese auf Lackmus nicht titrierenden Säuren bei der Gärung selbst entstanden sein müssen, beweist die Zunahme derselben bei den optimalen Temperaturen für alle Nährlösungen. Ein weiteres Kriterium dafür liegt darin, daß für die Temperaturen der mangelhaften Gärtätigkeit eine deutliche Abnahme dieser dem Pepton entstammenden Säuren zu konstatieren ist, was auch für diesen Teil der Gärkurve (29—26° C) den Rückgang der Gesamt-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIIa.

Einfluß des Stickstoffgehaltes des Nährbodens auf die Gärtätigkeit von Bacillus casei εA bei verschiedenen Temperaturen.

Versuchsdauer 48 Stunden.

Nummer d. Nährbodens	Prozent Peptonzusatz	Gesamtstickstoffgehalt Prozent	Mit Phosphorwolframsäure fällbar. Stickstoff Prozent	Amidstickstoffgehalt Prozent	Säuregrad beim Ansatz: Auf Lackmus titriert	Säuregrad beim Ansatz: Auf Lackmus nicht reagierend Differenz	Säuregrad beim Ansatz: Auf Phenolphtalein titriert Gesamtsäure	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Kultur: °C 52,5—50,5 32 51,7	°C 50,5—48,5 33 49,2	°C 47,0—46,0 39,0 46,3	°C 44,5—43,5 30 44,0	°C 41,5—40,5 35 40,9	°C Thermostat 38,0	°C 35,5—34,5 35 35,0	°C 32,0—31,0 34 31,9	°C 29,5—28,8 35 29,1	°C 27,0—25,5 30 26,2	°C Thermostat 23,4
I	0,05	0,0767	0,0491	0,0274	2,5	3,0	5,5	1) 5,0	15,9	21,6	15,6	13,6	12,4	10,0	6,6	5,2	4,8	3,6
								2) 2,4	12,3	18,0	10,4	10,4	7,6	7,6	4,0	2,8	2,8	2,8
								3) 2,6	3,6	3,6	5,2	3,2	4,8	2,4	2,6	2,4	2,0	0,8
II	0,1	0,0803	0,0584	0,0219	3,0	2,5	5,5	5,0	18,0	25,2	16,4	21,4	26,4	10,2	6,4	6,4	6,6	4,8
								2,6	13,6	21,2	11,6	16,4	22,4	8,2	4,0	4,0	4,0	3,2
								2,4	4,4	4,0	4,8	5,0	4,0	2,0	2,4	2,4	2,6	1,6
III	0,3	0,1041	0,0529	0,0512	2,8	3,2	6,0	12,8	18,4	24,8	24,0	31,2	24,0	15,2	11,2	10,0	8,2	5,2
								6,4	13,2	18,8	18,0	25,2	18,4	10,8	8,0	6,4	5,6	3,6
								6,4	5,2	6,0	6,0	6,0	5,6	4,4	3,2	3,6	2,6	1,6
IV	0,6	0,1351	0,0859	0,0492	4,4	3,6	8,0	14,4	22,0	29,6	29,8	33,6	29,6	26,4	17,6	13,1	7,6	8,4
								8,4	16,4	23,2	22,0	25,6	23,6	19,2	12,4	7,6	5,2	4,4
								6,0	5,6	6,4	7,8	8,0	6,0	7,2	5,2	5,5	2,4	4,0
V	1,0	0,2045	0,1150	0,0895	4,0	5,6	9,6	18,4	23,2	34,7	35,0	39,2	40,0	35,0	27,2	21,0	9,2	8,0
								11,2	14,0	25,2	24,6	28,8	32,4	27,6	18,8	13,6	5,2	5,2
								7,2	9,2	9,5	10,4	10,4	7,6	7,4	8,4	7,4	4,0	2,8
VI	3,0	0,3506	0,1461	0,2045	6,4	6,8	13,2	25,6	38,0	44,0	43,6	44,0	49,2	38,4	33,2	25,6	14,4	12,4
								16,0	25,2	30,0	31,2	32,4	36,4	29,2	23,2	15,6	4,8	6,4
								9,6	12,8	14,0	12,4	11,6	12,8	9,2	10,0	10,0	9,6	6,0

1) Gesamtsäuregrad.
2) Dem Milchzucker entstammende Säure.
3) Dem Pepton entstammende Säure.

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

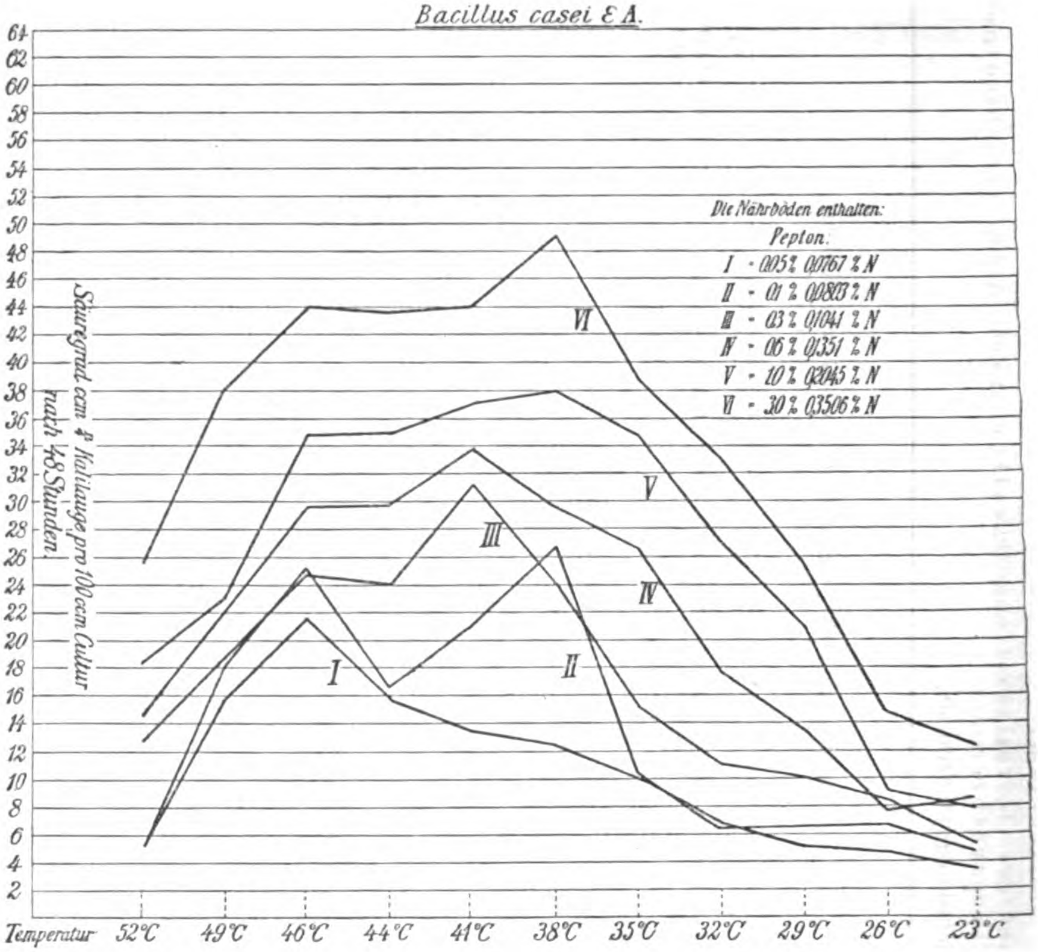


Fig. 6.

säuregrade erklärt. Gewiß ist es denkbar, daß die Aminosäuren als Vorstufen der biologischen Eiweißsynthese von den Milchsäurebakterien in erster Linie verbraucht werden, daß aber durch gärkräftige Kulturen auf dem Wege der Hydrolyse eine weitgehende Spaltung des Peptons eintritt, wobei parallel zum Verbrauch wieder neue Mengen Aminosäuren gebildet werden. Wiegt nun abspaltende Tätigkeit der verzehrenden vor, was in einer kräftig gärenden Nährlösung wahrscheinlich ist, so haben wir, wie in unseren Resultaten, eine Vermehrung dieser aus dem Pepton abgespaltenen, auf Lackmus nicht reagierenden Säuren. Hand in Hand mit der Abspaltung der letzteren könnte nun auch eine Mehrung schädlicher Stoffwechselprodukte gehen, was die Tatsache verständlicher machen würde, daß, je stickstoffreicher der Nährboden ist, desto mehr die Optimaltemperatur nach unten verschoben wird. Betrachten wir die Tabellen etwas näher, so sehen wir, daß die größte Peptonspaltung auf die höheren Temperaturen fällt. Für die ungünstigen tiefen Temperaturen kommt wohl nur eine Stickstoff-zehrende Tätigkeit der Kulturen in Betracht; die schwache Lebensenergie der letzteren reicht nicht hin, um eine Spaltung weiterer Peptonmengen zu veranlassen. Ein Ersatz der verzehrten Aminosäuren findet nicht statt; deshalb die Abnahme der dem Pepton entstammenden Säuren für die niederen Temperaturen (29—26° C). Alle diese interessanten Verhältnisse kontrollieren sich

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIIIa.

Einfluß des Stickstoffgehaltes des Nährsubstrates auf die Gärtätigkeit von Bacillus casei εB bei verschiedenen Temperaturen.

Versuchsdauer 48 Stunden.

Nummer d. Nährbodens	Prozent Peptonzusatz	Gesamtstickstoffgehalt Prozent	Mit Phosphorwolframsäure fällbar. Stickstoff Prozent	Amidstickstoffgehalt Prozent	Säuregrad beim Ansatz: Auf Lackmus titriert	Säuregrad beim Ansatz: Auf Lackmus nicht reagierend Differenz	Säuregrad beim Ansatz: Auf Phenolphtalein titriert Gesamtsäure	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Kultur: °C 52,5—50,5 32 51,7	°C 50,5—48,5 33 49,2	°C 47,0—46,0 39,0 46,3	°C 44,5—43,5 30 44,0	°C 41,5—40,5 35 40,9	°C Thermostat 38,0	°C 35,5—34,5 35 35,0	°C 32,0—31,0 34 31,9	°C 29,5—28,8 35 29,1	°C 27,0—25,5 30 26,2	°C Thermostat 23,4
I	0,05	0,0767	0,0493	0,0274	2,5	3,0	5,5	[1]) 5,6	10,8	11,2	18,8	14,8	12,0	10,8	5,6	5,2	4,0	3,6
								[2]) 3,0	7,2	6,0	14,4	9,6	8,8	6,0	2,8	2,8	3,2	2,8
								[3]) 2,6	3,6	5,2	4,4	5,2	3,2	4,8	2,8	2,4	0,8	0,8
II	0,1	0,0803	0,0584	0,0219	3,0	2,5	5,5	6,4	14,0	16,4	28,0	18,0	16,8	10,6	6,0	6,4	4,4	4,0
								3,6	10,0	10,8	23,0	13,6	13,6	8,4	3,6	4,0	2,8	2,8
								2,8	4,0	5,6	5,0	4,4	3,2	2,2	2,4	2,4	1,6	1,2
III	0,3	0,1041	0,0529	0,0512	2,8	3,2	6,0	7,0	19,2	23,2	27,6	27,2	22,0	14,4	11,2	10,4	5,6	4,8
								4,0	14,4	18,0	22,8	22,0	17,2	12,0	7,2	6,0	4,0	3,2
								3,0	4,8	5,2	4,8	5,2	4,8	2,4	4,0	4,4	1,6	1,6
IV	0,6	0,1351	0,0859	0,0492	4,4	3,6	8,0	13,2	21,2	27,8	30,6	31,2	35,4	24,0	16,0	12,4	7,2	6,4
								6,8	16,0	20,6	21,6	24,0	28,8	18,4	8,8	7,2	4,8	3,6
								6,4	5,2	7,2	9,0	7,2	6,6	5,6	7,2	5,2	2,4	2,8
V	1,0	0,2045	0,1150	0,0895	4,0	5,6	9,6	16,4	24,0	32,6	35,6	39,3	38,0	43,2	26,6	18,4	8,6	6,8
								7,6	16,4	21,6	26,4	33,0	30,4	36,0	18,4	10,8	4,6	4,4
								8,8	7,6	11,0	9,2	6,3	7,6	7,2	8,2	7,6	4,0	2,4
VI	3,0	0,3506	0,1461	0,2045	6,4	6,8	13,2	25,2	28,4	44,0	45,5	47,4	46,8	54,3	34,4	24,8	13,6	11,6
								14,0	14,8	31,8	33,2	37,4	36,4	44,7	22,0	16,0	7,6	5,6
								11,2	13,6	12,2	12,3	10,0	10,4	9,6	12,4	8,8	6,0	6,0

1) Gesamtsäure.
2) Dem Milchzucker entstammende Säure.
3) Dem Pepton entstammende Säure.

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Bacillus casei ε B.

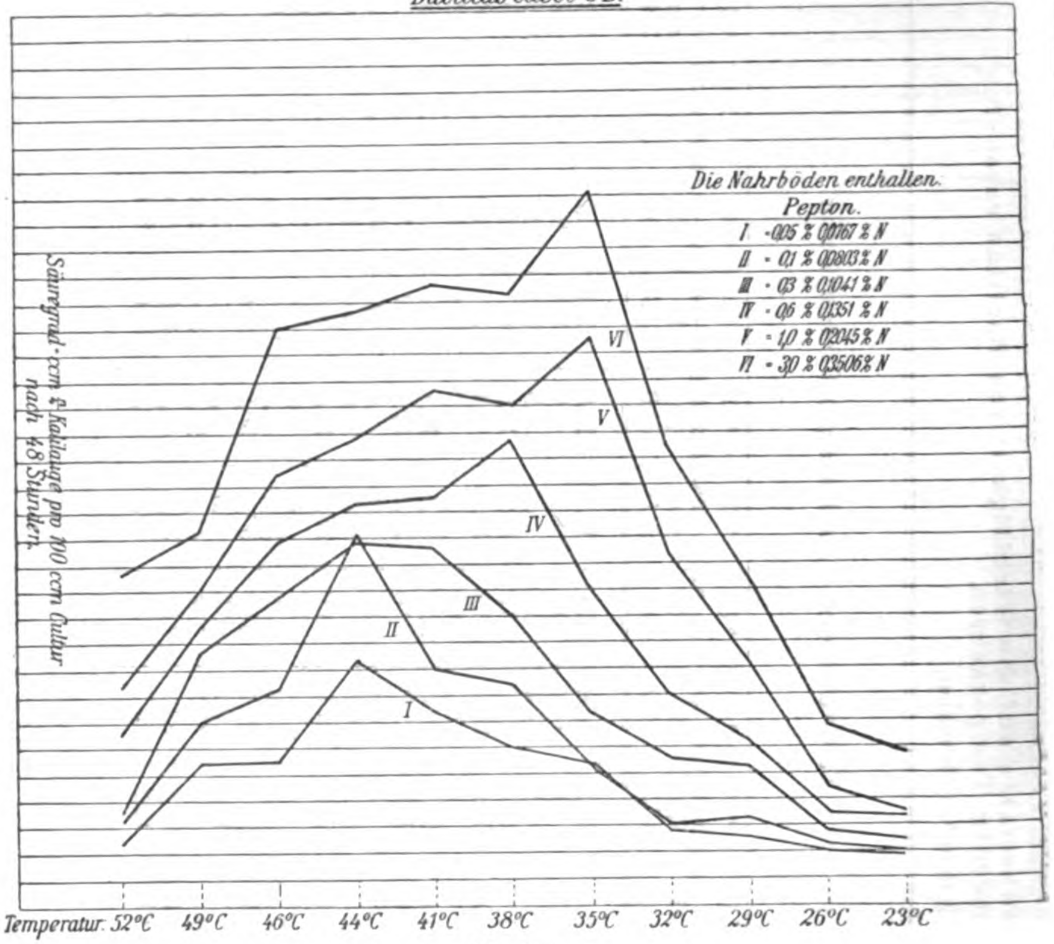


Fig. 7 [1]).

durch die gute Uebereinstimmung der bezüglichen Resultate für beide verwendeten Organismen.

Resumé.

1) Mit steigendem Peptongehalt der Nährlösungen wächst die Säuerungsintensität von Bacillus casei ε bedeutend.

2) Das Temperaturoptimum für die säurebildende Tätigkeit des genannten Organismus verschiebt sich mit steigendem Peptongehalt des Nährbodens nach unten.

3) An der Gesamtsäurebildung in Peptonschottenkulturen von Bac. casei ε sind neben den Spaltungsprodukten des Zuckers auch solche des Peptons beteiligt.

4) Das Maximum dieser bei der Gärung aus dem Pepton entstehenden Säuremengen liegt bei um so höherer Temperatur, je peptonreicher der Nährboden ist.

Von einer Behandlung dieser Frage mit Kulturen von Bacterium Güntheri sahen wir ab, weil erstens dieser Organismus weniger dankbar ist für die verabreichten vermehrten Peptongaben, und zweitens das geringe von demselben erreichbare Säuremaximum (20 Grade) eine gewünschte Differenzierung in den Säuregraden aussichtslos erscheinen ließ.

(Fortsetzung folgt.)

1) Für die Koordinateneinteilung gelten die gleichen Zahlen wie Fig. 6.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien.

Bacillus esterificans Maassen und Pseudomonas Trifolii nov. spec.

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. Dr. H. Weigmann.]

Von **Harald Huss.**

Mit 5 Tafeln.

(Schluß.)

Die Widerstandsfähigkeit von Pseudomonas Trifolii gegen Hitze.

Zur Feststellung der Temperatur, bei welcher die Bakterie abgetötet wird, wurde eine Anzahl Reagenzgläser (Diameter 1 cm) mit Bouillon mit einer 48 Stunden alten Agarstrichkultur beschickt und in Wasser von verschiedener Temperatur bestimmte Zeit gehalten. Nach dem Erhitzen wurden die resp. Röhrchen rasch abgekühlt und bei 20° C gehalten. Die Versuche ergaben die folgenden Resultate: Die Bakterie verträgt ein 2 Minuten dauerndes Erhitzen in Wasser von 60° C und ein 10-minutiges in 50° C warmem Wasser. 3 Minuten lange Erhitzung in Wasser von 60° C tötet sie.

Kulturelle Merkmale.

Gelatineplatte. Temperatur: 20° C.

1) Natürliche Größe:

a) Oberflächenkolonieen: 48 Stunden alte Kolonieen treten uns als nagelkopfförmige, saftig glänzende, auf weißem Untergrund graugelbe, bei durchfallendem Lichte wasserklare, farblose Punkte entgegen. Die Pünktchen nehmen allmählich an Größe zu, behalten aber immer ihre kreisrunde oder rundliche Form und das ihnen eigene, öltropfenähnliche Aussehen. Mit zunehmendem Alter werden sie ein klein wenig erhaben. Erst nach 10 Tagen macht sich eine ganz leichte Einsenkung in der Gelatine um die Kolonieen herum bemerkbar. Die mehr und mehr lebhaft gelb erscheinenden Kolonieen bleiben auch bei der fortschreitenden Verflüssigung des Substrates rundlich, zerfließen also nicht in der dickflüssigen, klaren Gelatine. Hie und da besitzt eine ältere Kolonie einen leicht zerrissenen Rand. Der Durchmesser einer Kolonie überschreitet meistens nicht 2 mm.

b) Tiefenkolonieen: Die in der Tiefe der Gelatine befindlichen Kolonieen bleiben immer sehr klein und erscheinen meistens als gelblich graue Pünktchen.

2) Bei 90-facher Vergrößerung:

a) Oberflächenkolonieen: Nach 24 Stunden kleine, rundliche, fast farblose, lichtbrechende, sehr fein punktierte Kolonieen. Nach 48 Stunden finden wir sie kreisrund, feinkörnig mit glattem Rande und von gelblicher Farbe. Die 10 Tage alten Kolonieen haben, da sie in flüssiger Gelatine liegen und relativ klein sind, ungefähr dasselbe Aussehen, das eine in Wasser eingeschlossene Luftblase unter dem Mikroskop besitzt. Das Zentrum der Kolonie ist bräunlich-gelb, der zerrissene Rand schwärzlich.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Tiefenkolonieen: In der Tiefe der Gelatine findet keine Verflüssigung derselben statt. Die hier wachsenden Kolonieen haben kreisrunde Form und horizontale Ausbreitung. Anfangs sind sie fast homogen, später tritt aber eine feinkörnige Zeichnung auf, zu der sich auch oft eine konzentrische Schichtung gesellt.

Pseudomones Trifolii bildet in Gelatine wie auch auf anderen Nährböden reichliche Mengen Calciumoxalat. Dasselbe wird in Form kleinerer und größerer, tetragonaler und monokliner Kristalle ausgeschieden. In älteren Platten beobachtet man außer den Einzelkristallen auch Drusen und Raphiden, die letzteren oft von außerordentlicher Schönheit in der Anordnung (Fig. 34). Die großen Einzelkristalle messen oft bis zu 105 μ, die Drusen bis zu 175 μ.

Die dichtbesäten Gelatineplatten besitzen ein süßliches Aroma, dem Wohlgeruch der Kleeblüten ähnlich; später tritt aber auch ein schwacher Ammoniakgeruch auf.

Gelatinetupfkultur. Temperatur: 20° C.

Die 15-proz. Gelatineplatte wurde mit einer 24 Stunden alten Bouillonkultur betupft. Nach einem Tag ist das Wasser der Bouillon verdunstet, bezw. von dem Substrat absorbiert worden. 48 Stunden nach dem Impfen ist nur ein kreisrunder, dünner, graugelber, schwach fluoreszierender Belag zu sehen. Eine 4 Tage alte Kolonie besitzt schon eine hell wachsgelbe Farbe. Unter dem Mikroskop betrachtet, bietet sie noch nichts Charakteristisches. Die innere Zeichnung der Kolonie ist grobkörnig oder schollig.

Mit zunehmendem Alter wird die Farbe der Kolonie intensiver; so erscheint z. B. eine 10 Tage alte Kolonie kräftig wachsgelb. Wenn die Tupfkolonie makroskopisch mitunter relativ trocken aussieht (bald hat sie ein fast lederartig trockenes Aussehen, bald ist die Oberfläche derselben glänzend feucht), so ist das nicht der Fall, wenn sie unter dem Mikroskope untersucht wird. Unterhalb der Bakterienmasse ist nämlich das Substrat verflüssigt. In dieser flüssigen Gelatine schwimmen zahllose kleine Oktaëder von Calciumoxalat. Die Bakterienmasse selbst enthält auch Kristalle von variierender Größe und Form. Der Rand der Kolonie ist mit kleineren und größeren Ausbuchtungen versehen, die bald homogen und oxalatfrei, bald stark gekörnelt und reich an großen Kristallen sind. Im übrigen verweise ich auf Fig. 31, welche eine 10 Tage alte Tupfkolonie bei etwa 10-facher Vergrößerung darstellt.

Die Verflüssigung der Gelatine schreitet immer weiter. Schließlich liegt die Kolonie in einem uhrglasförmigen, von dem Nährboden scharf getrennten Trichter, dessen Inhalt außerhalb der Kolonie vollständig klar ist. Die Bakterienmasse erscheint nach einem Monat an der Oberfläche feucht und glänzend wachsgelb.

Gelatinestich. Temperatur: 20° C.

Ein 24 Stunden alter Stich zeigt uns eine Nagelkultur. Auf der Oberfläche der Gelatine hat sich ein stecknadelkopfgroßer, wachsgelber, glänzender Belag entwickelt. Der Stich selbst erscheint auf weißer Unterlage bräunlich-gelb oder fast goldgelb. Nach 3 Tagen macht sich der Anfang einer Verflüssigung bemerkbar; der Oberflächenbelag ist ganz schwach in das Substrat eingesunken. 2 oder 3 Tage später, also 5—7 Tage nach der Impfung, ist bereits eine kleine, napfförmige Verflüssigungsschale entstanden, die zum Teil mit braungelber Bakterienmasse gefüllt ist. Von flüssiger Gelatine ist eigentlich noch nichts zu sehen (Fig. 29). Am 8. Tage begegnet uns ein schmaler, oben etwa 3 mm

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im Diameter fassender Trichter, welcher nach unten zu allmählich in den fadenförmigen Teil des Stiches übergeht. Der Trichter enthält nur Spuren von verflüssigter Gelatine, die Wände desselben sind mit gelber Bakterienmasse ausgekleidet. Ein 11-tägiger Stich hat die Form eines Scheidetrichters. Der untere, schmale Teil desselben ist mit von körniger Bakterienmasse getrübter, flüssiger Gelatine gefüllt. Dieser erweitert sich jetzt nach und nach, so daß der Stichkanal am 17. Tage etwa schlauchartige Gestalt besitzt. Die verflüssigte Gelatine ist zu dieser Zeit fast klar, nur einzelne gelbe Körnchen schwimmen in ihr herum (Fig. 30). Nach einem Monat ist der größere Teil der Gelatinesäule aufgelöst. Die Flüssigkeit enthält nur wenige Körner und Wölkchen von gelber Bakterienmasse, die sich hauptsächlich am Boden des Kulturglases angesammelt hat. Allmählich hat sich auch auf der Gelatine eine Haut gebildet, die bei diesem Alter der Kultur recht kräftig entwickelt ist und eine lebhaft wachsgelbe Farbe besitzt. Beim Schütteln zerfällt sie in zum Boden sinkende Brocken.

Eine 3 Tage alte Gelatinestichkultur besteht aus Individuen, die meistens 0,75—2,1 μ lang und 0,5—0,7 μ breit sind. Auch längere Zellen (bis zu 3,5 μ) kommen vor, sind aber in geringer Zahl vorhanden. Die längsten Verbände zählen zwei Zellen (Fig. 19). In einer einen Monat alten Kultur sind die längeren Individuen häufiger; eigentliche Fäden wurden aber nicht beobachtet. Hie und da trifft man Verbände an, die dreizellig sind (Fig. 20).

Agarplatte.

A. Temperatur 20° C.

1) Natürliche Größe:

a) Oberflächenkolonieen: Nach 3 Tagen höchstens 1 mm große, kreisrunde, saftig glänzende, auf schwarzer Unterlage graue, auf weißer gelblich-graue Kolonieen, die bei durchfallendem Licht fast wasserklar, gelblich schimmernd erscheinen. Am 5. Tage haben dieselben eine Größe von 1,5—2 mm erreicht und zeigen sich auf weißer Unterlage hell wachsgelb. Sie sind recht stark erhaben und glattrandig. Bei durchfallendem Licht erscheinen sie jetzt bräunlich, grau, halb durchsichtig (Obs. Vergleiche hierzu gleichaltrige Kolonieen, die bei 37° C gewachsen sind). In 15-tägigen Platten begegnen die Kolonieen uns als im Maximum um 2,5 mm im Durchmesser fassende, kreisrunde, glattrandige, saftig glänzende, homogene, auf weißer Unterlage lebhaft wachsgelbe, zentripetal erhabene Belage.

b) Tiefenkolonieen: Am 3. Tage graue Pünktchen oder kreisrunde Scheiben, welche sich allmählich zu wachsgelben, wetzsteinförmigen, bezw. zu blaugrauen und kreisrunden, konzentrisch gezeichneten Kolonieen entwickeln.

2) Bei 90-facher Vergrößerung:

a) Oberflächenkolonieen: Nach 48 Stunden kreisrunde, schwach gelbliche, mit glattem Rande versehene Kolonieen, deren Zentrum stark lichtbrechend ist. Das Innere derselben ist fein punktiert. 3 Tage alte Kolonieen haben rundliche Form und einen glatten, etwas wellig verlaufenden Rand. Der zentrale Teil besitzt bräunlich-gelbe Farbe, ist reich an feinen Rissen und Kanälchen, die quer und kreuz die Bakterienmasse durchsetzen; die farblose Randpartie ist dagegen fein punktiert. Am 9. Tage besteht das bräunliche Zentrum der kreisrunden Kolonieen aus grobkörniger oder zu kleineren Klümpchen zusammengeballter

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Bakterienmasse, während der feinkörnige Rand mitunter radiär gestrichelt ist. 15-tägige Kolonieen besitzen in der Hauptsache dasselbe Aussehen wie die letztgenannten, nur ist ihre Farbe etwas dunkler bräunlich-gelb. Der Rand derselben bekommt schließlich eine feine Zähnelung.

b) Tiefenkolonieen: Die wetzsteinförmigen Tiefenkolonieen sind schon im Alter von 3 Tagen bräunlich und glattrandig, die kreisrunden Kolonieen aber, welche einen fein gezähnten oder zerrissenen Rand haben, zeichnen sich durch ihre schwache Färbung aus; nur das Zentrum derselben ist gelblich. Die innere Zeichnung ähnelt derjenigen der Oberflächenkolonieen. Am 5. Tage besitzen die scheibenförmigen Tiefenkolonieen etwas mehr Charakter. Man unterscheidet bei ihnen drei Zonen, eine zentrale, aus größeren Körnern bestehend, die darauffolgende grobkörnig gezeichnet und reich an Kanälchen und schließlich die periphere Zone, welche fein punktiert ist. Das Zentrum hat eine braune Farbe, die gegen den Rand der Kolonie zu nach und nach in schwach gelblich übergeht. Das hier geschilderte Aussehen besitzen die Kolonieen auch in 15 Tage alten Kulturen.

Sowohl die Oberflächen- wie auch die Tiefenkolonieen enthalten im älteren Stadium Calciumoxalat in Form von kleinen Raphiden.

B. Temperatur 37° C.

1) Natürliche Größe:

a) Oberflächenkolonieen: Schon nach 24 Stunden begegnen uns die Oberflächenkolonieen als kreisrunde, fast nur punktgroße, auf schwarzer Unterlage graue, saftig glänzende, schwach erhabene Belage. Einen Tag später finden wir Kolonieen vor, die bis zu 1,2 mm groß sind und bei durchfallendem Licht wasserklar, bräunlich-gelb erscheinen. Am 3. Tage haben sie eine Größe von 1,5 mm erreicht, besitzen sonst dieselben Charaktere, wie einige Tage ältere, bei 20° C gewachsene Kolonieen. Die Farbstoffproduktion ist aber bei jenen reichlicher als bei diesen. Die für die bei höherer Temperatur gezüchteten Kolonieen charakteristische Beschaffenheit, bei durchfallendem Licht ganz wasserklar und durchsichtig zu sein, behalten dieselben auch in den ältesten Kulturen. Wie die Belage älterer Strichkulturen, haben auch die bei Bruttemperatur gewachsenen Oberflächenkolonieen ein Aussehen, das an gelbe Vaseline erinnert. Der Durchmesser dieser kreisrunden, flachen Kolonieen beträgt auf dünn besäten Platten in den ältesten Kulturen höchstens 1,5 mm.

b) Tiefenkolonieen: Für diese gelten dieselben Charaktere wie für die bei 20° C gehaltenen Kolonieen, nur entwickeln sie sich natürlich bedeutend schneller als die letzteren.

2) Bei 90-facher Vergrößerung: Zwischen den bei niedrigerer und bei höherer Temperatur gezüchteten Kulturen ist bei dieser Vergrößerung kein großer Unterschied vorhanden. Das einzig Bemerkenswerte wäre, daß die Oberflächenkolonieen der Bruttemperaturkulturen meistens eine nur ganz schwache, gelbliche Farbe besitzen.

Die Agarplattenkulturen entwickeln dasselbe Aroma wie die Gelatinekulturen.

Agarstrich.

Das Wachstum der Pseudomonas Trifolii ist in der ersten Zeit bedeutend kräftiger bei 37° als bei 20° C, wird aber bald immer langsamer, um nach etwa einer Woche fast zu sistieren. Die bei Bruttemperatur gezüchtete, anfangs graugelbe bis wachsgelbe Kultur bekommt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bald eine klare, bräunlich-gelbe Farbe, die, wie schon früher erwähnt wurde, an amerikanische, gelbe Vaseline erinnert, während die bei niedrigerer Temperatur gehaltene Kultur in der ersten Zeit wachsgelb erscheint und erst nach monatelangem Stehen das durchsichtige, bräunlich-gelbe Aussehen annimmt.

Der Agarstrich ist charakterisiert durch seine oben genannte Farbe, durch die glatte, saftig glänzende Oberfläche und den glatten Rand derselben. Der zentrale Teil der Kultur ist von dunklerer Farbe als die Peripherie. Die Randpartie besitzt in älteren, bei Zimmertemperatur gehaltenen Kulturen eine charakteristische Zeichnung, indem dieselbe quer zur Längsachse des Striches fein gestrichelt ist (vergl. Agartupfkultur). Die Konsistenz der Kultur ist butterartig, das Kondenswasser klar, besitzt aber einen graugelben Bodensatz.

Die Individuen einer 16 Stunden alten, bei 37° gehaltenen Kultur sind lebhaft beweglich, ebenso diejenigen eines 2-tägigen Striches; dagegen enthielt ein Agarstrich, der 14 Tage alt und bei derselben Temperatur wie die erstgenannten gewachsen war, nur wenige bewegliche Zellen.

In den bei 37° C gezüchteten Kulturen sind die langen Formen der Bakterie zahlreich vertreten (Fig. 18), bedeutend zahlreicher als in den Gelatinekulturen. Im Gegensatz hierzu trifft man unter den bei 20° C kultivierten Individuen nur wenige Langstäbchen an; der Typus ist hier das Kurzstäbchen, welches oft fast kokkenähnliche Gestalt annimmt.

Agarstich.

Diese Kulturform bietet nichts Charakteristisches. Das Wachstum ist gut im ganzen Stichkanal, ebenso auf der Oberfläche, die allmählich von einem saftig glänzenden, wachsgelben Belag bedeckt wird.

1-proz. Dextroseagar-Tupfkulturen. Temperatur 20° C.

Diese Kulturen wurden in derselben Weise wie die bei Bacillus esterificans besprochenen Tupfkulturen angesetzt. Jede Petri-Schale wurde nur mit einem Tropfen Bouillonkultur beschickt; es entwickelte sich also immer nur eine Kolonie in der Schale.

Die nach 12 Tagen etwa 3—4 cm im Diameter messende rundliche Riesenkolonie ist von graugelber bis wachsgelber Farbe, saftig glänzend und recht stark erhaben. Dieselbe macht, wie Fig. 32 zeigt, fast denselben Eindruck wie der Querschnitt eines Baumzweiges. Das Zentrum hebt sich scharf von dem zwischen ihm und der peripheren Partie liegenden Teil ab. Es ist krobkörnig oder schuppig gezeichnet und von einem dunklen Kreis umgeben. Die das Zentrum umgebende Zone der Kultur ist hell, makroskopisch betrachtet feinkörnig und in verschiedenen Richtungen gestrichelt. Die Randpartie schließlich, welche kleinere und größere Ausbuchtungen hat, besitzt zum Teil eine konzentrische Zeichnung. Sie wird durchzogen von mehreren welligen Kreisen, von welchen in zentrifugaler Richtung radiäre Strahlen fächerartig ausgehen. Die Ausbuchtungen des Randes besitzen oft das Aussehen eines ausgeschlagenen Fächers. Die die Ausbuchtungen durchziehenden Strahlen, welche dunkel erscheinen, scheinen bei mikroskopischer Untersuchung aus dichterer Bakterienmasse zu bestehen. Viele von diesen radiären Strahlen teilen sich wieder am Rande der Kolonie wedelartig auf (Fig. 33).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Molkenagarstrich.

Temperatur 20° C.

Als Impfmaterial benutzte ich eine junge, wachsgelbe Agarstrichkultur, die bei 20° C gewachsen war.

Das Wachstum auf dem sauer reagierenden Molkenagar ist ebenso gut wie auf dem alkalischen Agar. Der Belag ist aber fast farblos, blaugrau, und behält er diese Farbe längere Zeit. Erst am 10. oder 12. Tage fängt der Strich an eine gelbliche Farbe anzunehmen, die allmählich gesteigert wird. So besitzen die Kulturen nach einem Monat lebhaft wachsgelbe Farbe. Die nach längerer Zeit auftretende Farbstoffbildung ist auf die allmähliche Neutralisation des Nährbodens durch das von der Bakterie erzeugte Ammoniak zurückzuführen; hierdurch werden günstigere Bedingungen für die Pigmentbildung geschaffen.

Nicht nur auf die Fähigkeit der Bakterie, Farbstoff zu erzeugen, hat aber die saure Reaktion des Nährbodens anfangs einen herabsetzenden Einfluß, die Beweglichkeit derselben wird auch gleichzeitig vermindert. Die ersten Tage enthalten die Kulturen nämlich nur wenige bewegliche Zellen (vergleiche hierzu die zuckerhaltigen Bouillonkulturen). Später, parallel der zunehmenden Farbstoffbildung nimmt auch die Zahl der beweglichen Individuen zu. Sogar 2 Monate alte Molkenagarkulturen enthielten viele bewegliche Zellen.

Für die Farbstoffproduktion der Pseudomonas Trifolii spielt also die Reaktion des Substrates eine viel größere Rolle als die bei dem von Bazarewski beschriebenen Bacillus brunneus rigensis (1), welche sowohl auf saueren wie alkalischen Nährböden das ihm eigene braune Pigment erzeugt. Mit allen anderen daraufhin untersuchten Bakterien (vergl. 15) teilt dagegen Pseudomonas Trifolii die Eigenschaft durch die Reaktion des Substrates in der Farbstoffbildung beeinflußt zu werden.

Daß nur die sauere Beschaffenheit des Molkenagars als Ursache an dem Ausbleiben der Farbstoffbildung aufzufassen ist, geht aus den folgenden Versuchen hervor. Das Molkenagar wurde mit 50-proz. Kalilauge (10 ccm Molkenagar + 1 Tropfen KOH), bezw. mit 5-proz. Natriumkarbonatlösung (10 ccm Molkenagar + 5 Tropfen Na_2CO_3) alkalisch gemacht und dann mit der Bakterie geimpft (Strichkultur). Beide Kulturen zeigten eine kräftig gelbe Färbung. Am lebhaftesten war diese bei dem erstgenannten Strich.

Bouillon.

Temperatur: 20° und 37° C.

15 Stunden nach der Impfung ist die bei 37° C gewachsene Kultur bedeutend stärker getrübt, als die bei 20°. Nach 3 Tagen ist dieser Unterschied nicht mehr so groß. Die Bouillon wird stark getrübt und setzt einen kräftigen sandig-wolkigen, graugelben Bodensatz ab. Eine schleierartige, graugelbe, an der Wand des Kulturglases haftende Haut ist entstanden. Beim Schütteln fällt die ganze Haut, ohne Brocken zu bilden, zu Boden. Die Bouillon besitzt eine recht starke, gelbe Färbung und riecht wie die Gelatine- und Agarkulturen nach frisch getrocknetem Heu. Die Reaktion der Kultur ist alkalisch. Das Destillat einer mit Magnesiumoxyd versetzten Bouillonkultur hat einen ammoniakalischen Geruch.

Für mit Trauben- oder Milchzucker versetzte Bouillonkulturen gelten

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

dieselben Charaktere wie für die oben geschilderten zuckerfreien Kulturen. Gasbildung findet nicht statt. Die Kulturen reagieren sauer. Sie enthalten nur wenige bewegliche Stäbchen.

In Bouillon gezüchtete Individuen sind durch ihre kurze, dicke, oft kokkenähnliche Form ausgezeichnet (Fig. 21). Die gewöhnliche Länge der Zellen ist 1,10 μ, die Breite derselben 0,7 μ. Die längsten Verbände sind zweizellig.

Methylenblaubouillon. Temperatur: 20° C.

Innerhalb 15 Stunden wird eine mit Methylenblau grünlichblau gefärbte Bouillon entfärbt. Schüttelt man diese entfärbte Kultur bis zu eingetretener Bläufärbung und stellt sie bei 20° C, so ist sie nach 24 Stunden wieder entfärbt. Diese Operation kann einige Tage nacheinander erneuert werden. Schließlich hört die Reduktion des Farbstoffs auf.

Nachweis von H_2S-Bildung.

Der Versuch wurde auf dieselbe Weise, wie für Bacillus esterificans beschrieben ist, ausgeführt. 7 Tage nach der Impfung der Bouillon zeigte das Bleiacetatpapier eine deutliche Bräunung des Randes und der Spitze desselben. Schwefelwasserstoff wird also, nach dem Ausfall dieses Versuches zu beurteilen, von Pseudomonas Trifolii in etwas geringeren Mengen erzeugt als von Bacillus esterificans.

Vergleicht man jetzt diese Resultate mit den Ergebnissen der Methylenblaubouillonkulturen der beiden Bakterien und außerdem mit dem Reduktionsvermögen derselben gegenüber Nitraten, so darf man wohl als wahrscheinlich annehmen, daß der von Bacillus esterificans gebildete H_2S wenigstens zum größten Teil durch direkten Zerfall des Eiweißmoleküls ohne Zutun des Wasserstoffs entsteht, daß dagegen der von Pseudomonas Trifolii in scheinbar recht ausgiebiger Menge erzeugte Wasserstoff auf die Eiweißstoffe reduzierend einwirkt und somit zur Schwefelwasserstoffbildung führt.

Die Säurebildung aus Alkoholen und Kohlehydraten.

Für die quantitative Bestimmung der von Pseudomonas Trifolii aus Alkoholen und Kohlehydraten produzierten Säuren wurden dieselben Nährlösungen benutzt, die zu demselben Zweck bei der Untersuchung von Bacillus esterificans Verwendung fanden.

Da Pseudomonas Trifolii in eiweißhaltigen Nährböden reichliche Mengen alkalisch reagierende Stoffe erzeugt, gestaltet sich die Bestimmung des Titers einer alkohol-, bezw. kohlehydrathaltigen Bouillonkultur etwas komplizierter als bei Bacillus esterificans. Je nach der Züchtungstemperatur und dem Alter der Kultur bekommt man nach kürzerer oder längerer Zeit eine sauer oder alkalisch reagierende Flüssigkeit. Scheinbar werden die Eiweißstoffe erst nach der Vergärung der Kohlehydrate in Angriff genommen; die kohlehydrathaltigen Kulturen reagieren in den ersten Tagen sauer, zeigen aber später eine alkalische Reaktion. Da ich hoffe, später Gelegenheit zu bekommen, das Verhalten der Bakterie gegen Alkohole und Kohlehydrate, bezw. Eiweißstoffe einer eingehenden Untersuchung zu unterwerfen, teile ich hier vorläufig nur die Resultate der jetzt ausgeführten Titrierungen ohne Kommentare mit.

Die Versuche wurden in derselben Weise angestellt, wie für Bacillus esterificans schon beschrieben worden ist. Die 50 ccm betragende Kultur wurde auf 100 ccm verdünnt und von diesen 25 ccm

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit $\frac{n}{4}$ NaOH titriert. Indikator: 5 Tropfen 1-proz. Phenolphtaleinlösung.

1. Versuch. Temperatur 20° C. Alter der titrierten Kulturen: 10 Tage.

Nährlösung	Ungeimpft	Geimpft
Bouillon	0,30 ccm	0,20 ccm
„ + Mannit	0,30 „	0,85 „
„ + Arabinose	0,50 „	1,00 „
„ + Xylose	0,50 „	1,20 „
„ + Dextrose	0,33 „	0,35 „
„ + Saccharose	0,30 „	0,65 „
„ + Laktose	0,30 „	0,20 „
„ + Raffinose	0,30 „	0,45 „

2. Versuch. Temperatur: 30° C. Alter der titrierten Kulturen: 12 Tage.

Nährlösung	Ungeimpft	Geimpft
Bouillon	0,30 ccm	0,00 ccm
„ + Mannit	0,30 „	1,10 „
„ + Arbinose	0,50 „	0,80 „
„ + Xylose	0,50 „	1,10 „
„ + Dextrose	0,35 „	0,70 „
„ + Saccharose	0,30 „	0,00 „ [1])
„ + Laktose	0,30 „	0,00 „ [1])
„ + Raffinose	0,30 „	0,00 „ [1])

Die vorstehenden Tabellen zeigen, wie verschieden der Titer der Kulturen je nach der Züchtungstemperatur ausfällt. Das eine Kohlehydrat wird rascher vergoren, das andere langsamer. Es kommen bei verschiedenen Temperaturen verschiedene Enzyme zur Wirkung; bei höherer Temperatur entfaltet das eine Enzym eine lebhaftere Tätigkeit als das andere, u. s. w. Alle diese Fragen will ich in einer späteren Arbeit über Pseudomonas Trifolii zu beantworten versuchen.

Von den hier angeführten Verbindungen scheint die Bakterie nur die Laktose unangegriffen zu lassen. Der Titer der Laktose-Bouillonkulturen stimmt auch mit der Eigenschaft der Bakterie überein, Milch erst nach längerer Zeit zur Gerinnung zu bringen. Bei 20° C gerinnt die Milch labähnlich erst nach 14 Tagen, bei 37° C nach 9—10 Tagen. Im Gegensatz hierzu wird Milch, die mit Dextrose versetzt wurde, schon in 2—3 Tagen zu Koagulation gebracht. In den ersten Fällen wird also das Milchkasein durch ein Labenzym zerlegt, während in dem letzteren Fall die Gerinnung durch die aus der Dextrose gebildeten Säuren zu stande gebracht wird.

Je höher der Gehalt einer der oben angeführten Bouillonkulturen an Säure war, desto geringer zeigte sich die Zahl der in denselben vorkommenden beweglichen Bakterien. Die Oidien der alkalisch reagierenden Kulturen waren dagegen zum größten Teil lebhaft beweglich.

Indolbildungsvermögen.

Eine 4 Tage alte Kultur (über die Zusammensetzung der Nährlösung siehe: Bacillus esterificans,) färbte sich beim Erhitzen mit Kaliumnitrit und 10-proz. Schwefelsäure schwach, aber deutlich rot.

1) Mit Phenolphtalein rot. 1—2 Tropfen $\frac{n}{4}$ H_2SO_4 genügten zur Entfärbung.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Reduktionsvermögen gegenüber Kaliumnitrat.

Als Nährsubstrat wurde dieselbe mit Kaliumnitrat versetzte Peptonlösung benutzt wie bei dem gleichen Versuch mit Bacillus esterificans.

Die nach vier Tagen ausgeführte Prüfung auf Nitrit gab als Resultat, daß das Reduktionsvermögen von Pseudomonas Trifolii ein sehr hohes ist.

Milchkulturen.

Als Nährboden diente eine etwa 0,1 Proz. Fett enthaltende Milch.

1) In Reagenzrohr (10 ccm Milch) bei 20° C:

Am 14. Tage tritt labähnliche Gerinnung ein. Das ausgefällte Casein wird allmählich, aber sehr langsam zum größten Teil wieder aufgelöst. Die Reaktion der Kultur ist alkalisch, die Farbe graugelb und der Geschmack derselben sehr bitter.

Die Oidien einer bei 20° C gewachsenen Milchkultur besitzen im allgemeinen dieselbe kurze, dicke Form wie in Bouillonkulturen, nur sind die Zahl der kokkenähnlichen Individuen hier kleiner. Ein Unterschied in der Morphologie zwischen Oidien aus jüngeren und älteren Milchkulturen wurde nicht beobachtet.

2) In Reagenzrohr (10 ccm Milch) bei 37° C:

Die Gerinnung der Milch tritt hier nach etwa 9 Tagen bei amphoterer Reaktion ein. Zu dieser Zeit ist auch ein wachsgelber Ring von Bakterienmasse an der Glaswand entstanden. Schon am 14. Tage ist ein großer Teil des Kaseins peptonisiert, so daß wir eine alkalisch reagierende, graugelbe, schleimige, trübe Flüssigkeit vor uns haben, die nach 3 Wochen eine relativ kräftige, schmutzig gelbe Farbe besitzt. Nach 4—5 Wochen, wo das Kasein schon längst vollständig aufgelöst ist, nimmt die Kultur eine recht lebhaft bräunlich wachsgelbe Färbung an, die besonders in der obersten Schicht kräftig ist.

Wie die auf Agar bei 37° C gezüchteten Individuen haben diejenigen der vorstehenden Kultur eine langgestreckte Form. In einer Milchkultur, die einen Monat bei 37° C gestanden hatte, beobachtete ich Verbände, die bis zu 6 Zellen enthielten. Einzelne Individuen erreichen hier eine Länge von 8—9 μ.

3) In Flaschen mit Patentverschluß (Temperatur: 16—18° C):

Die Milch wird nicht koaguliert. Die Peptonisierung verläuft äußerst langsam. Eine 3 Monate alte Kultur ist nur unbedeutend durchsichtiger als ungeimpfte, sterilisierte Milch. Ihre Farbe ist graugelb, die Reaktion derselben ganz schwach alkalisch und der Geschmack kräftig bitter. Sie besitzt einen ausgeprägten Geruch nach frischem Heu und gleichzeitig ein an getrocknete Blüten von Melilotus altissimus erinnerndes Aroma.

Kartoffelkulturen.

1) Temperatur 7° C: Die Vermehrung der Bakterie erfolgt bei dieser relativ niedrigen Temperatur verhältnismäßig rasch. Eine 7 Tage alte Strichkultur zeigt einen kräftigen, breiten, erhabenen und schön wachsgelb gefärbten Belag. Die Oberfläche derselben ist fast matt.

Das gefärbte Präparat einer solchen Kultur enthält meistens nur kurze, dicke Stäbchen von „normalem“ Aussehen. Unter den seltener vorkommenden längeren Individuen findet man oft gekrümmte Formen.

Die 7-tägige Kultur besteht teils aus beweglichen, teils aus unbeweglichen Zellen; die letzteren sind in großer Zahl vorhanden.

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Temperatur 20° C: Eine 20 Stunden alte Kultur besteht aus einem schmalen, hell wachsgelben, glänzenden Streifen. Schon in 3 Tagen entwickelt sich dieses zu einem kräftigen, dicken, recht stark erhabenen, schön wachs- oder eidottergelben, mehr oder weniger glänzenden Belag, der sich nach und nach über die ganze Substratfläche ausbreitet. Die Konsistenz der Kultur ist etwas schleimig und weich. Die Bakterienmasse enthält große Mengen Calciumoxalat in Form von Raphiden, die meistens in Büscheln und Bündeln vorkommen.

Die Oidien dieser Kultur zeichnen sich durch lebhafte Beweglichkeit aus. Die längeren Individuen (vergl. Gelatine- und Agarkulturen!) sind in Mehrzahl vorhanden, man trifft sogar unsegmentierte Fäden von 12 μ Länge an. Breite, gebogene Zellen sind nicht selten, ebenso mehrzellige Verbände, die bis zu 10 Zellen enthalten. Das Plasma der Oidien ist, wie die Fig. 22 zeigt, stark körnig.

3) Temperatur 37° C: Die 24 Stunden alte Kultur besteht aus einem kräftig entwickelten. aber, was die Farbe betrifft, nur in der Mitte wachsgelben Strich; der übrige Teil des Belages ist graugelb — farblos. Im Gegensatz zu der bei 20° C gewachsenen Kultur entwickelt sich diese zu einem ganz flachen, am 3. Tage lebhaft wachsgelben Belag, der eine saftig glänzende Oberfläche besitzt. Der Belag bleibt immer ganz flach, nimmt aber nach kurzer Zeit den größten Teil der Substratfläche für sich in Anspruch. Die Farbe desselben geht allmählich in eine mehr bräunlichgelbe über, um dann schließlich nach längerem Stehen bei 37° C schmutzig braungelb zu werden.

Die vorstehende Kultur hat in mikroskopischer Hinsicht dieselbe Zusammensetzung wie die oben beschriebene bei 20° C gezüchtete Kartoffelkultur.

Kulturen in mineralischen Nährlösungen.

Die Versuche, Pseudomonas Trifolii in anorganischen Nährlösungen zu züchten, gaben negative Resultate.

Auch wenn den Lösungen Glycerin, Mannit, Dextrose oder Saccharose zugesetzt wurden, blieb das Wachstum aus.

Anaërobe Kulturversuche.

Sowohl Bouillon- wie Agar- und Kartoffelkulturen wurden für die anaëroben Kulturversuche benutzt. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den gleichen Versuchen mit Bac. esterificans. In keiner der nach 10 Tagen gemusterten Kulturen konnte ein Wachstum konstatiert werden. Durch die Anaërobiose werden die Kulturen sichtbar geschwächt, was durch eine Umimpfung der Kartoffelkulturen dargelegt wurde. Die Entwickelung dieser aërob gehaltenen Kulturen schritt sehr langsam vorwärts; auch war die Farbe dieser Striche nur schwach graugelb.

Mikrochemische Reaktionen.

Die mit Pseudomonas trifolii ausgeführten mikrochemischen Reaktionen dienten demselben Zwecke wie die mit Bac. esterificans angestellten, mit anderen Worten dem Nachweis plasmatischer Inhaltsstoffe. Da die Art und Weise der Ausführung derselben schon beschrieben worden ist, kann ich mich hier darauf beschränken, die nackten Resultate in aller Kürze anzuführen.

Iogen: In 3 Wochen alten Kartoffelkulturen wurden ziemlich viele Stäbchen beobachtet, deren Plasma kleinere und größere, mit verdünnter

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Jodjodkaliumlösung sich blau färbende Körnchen enthielten. Agar- und Gelatinekulturen waren frei von Iogen.

Fett: Fett konnte nirgends nachgewiesen werden. Die geringe Größe der Zellen und wohl auch die relativ schwache Vergrößerung, die zur Verfügung stand (Imm.-Objekt $^1/_{12}$ + Kompensationsokular 8) mögen vielleicht an diesem Resultat Schuld sein.

Glykogen: Alle Kulturen erwiesen sich als glykogenfrei.

Volutin: Die Oidien einer 14 Tage bei 20° C gehaltenen Agarstrichkultur besaßen je ein oder zwei relativ große Kügelchen Volutin. Die Stäbchen einer 14 Tage alten Gelatinestichkultur waren alle volutinfrei, ebenso die eines dreiwöchigen Kartoffelstriches. Unter den Oidien eines 48 Stunden alten (20° C) Molkenagarstriches wurden einzelne volutinhaltige Individuen gefunden.

Der Farbstoff von Pseudomonas Trifolii.

Der gelbe Farbstoff ist unlöslich in Wasser und Aether, dagegen löslich in Alkohol absol. Kocht man etwas von der Bakterienkultur mit 10-proz. Schwefelsäure, so entsteht eine farblose Flüssigkeit. Wird jetzt diese mit Kalilauge alkalisch gemacht, so tritt eine lebhafte Gelbfärbung ein. Diese Reaktionen verdeutlichen auch den Farbstoffwechsel in den Kulturen auf saurem Molkenagar.

Von den schon bekannten Bakterien steht Pseudomonas Trifolii der Pseudomonas campestris (Pammel) Smith (14), einer Pflanzenkrankheiten verursachenden Bakterie, am nächsten. Diese bildet auch wachsgelb gefärbte Belege auf Kartoffeln und verflüssigt Gelatine wie Pseudomonas Trifolii, unterscheidet sich aber von dieser dadurch, daß sie in Stich- und Plattenkulturen große Kristalle von Ammoniummagnesiumphosphat produziert. Außerdem ist Pseudomonas campestris ein etwas schmäleres Stäbchen (0,4—0,5 μ). Das Bacterium ochraceum (Zimmermann) Lehmann und Neumann (10), welches sowohl in der Chemnitzer Wasserleitung wie in Mageninhalt gefunden wurde, wächst auch gelb auf Kartoffeln, bildet aber auf diesen einen nur dünnen Belag und ist dazu durch eine nur langsame, schlängelnde Bewegung charakterisiert.

Kiel im Februar 1907.

Literatur.

1) v. Bazarewski, S., Ueber zwei neue farbstoffbildende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906).
2) Bütschli, O., Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890.
3) —, Bemerkungen über Cyanophyceen und Bakteriaceen. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902; zitiert bei D. Ellis; siehe 4).
4) Ellis, D., Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
5) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903.
6) Grimme, A., Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Centralblatt für Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.)
7) Gruber, Th., Beitrag zur Identifizierung und Beschreibung von Clostridium polymyxa Prazmowski. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905.)
8) Hueppe, Methoden der Bakterienforschung. 1891. (Zitiert bei W. Migula, Allgemeine Morphologie, Entwickelungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Schizomyceten. Handbuch der technischen Mykologie, herausgegeben von Fr. Lafar. Bd. I. Lief. 1. 1904.)
9) Klebs, Allgemeine Pathologie. 1887. (Zitiert bei W. Migula, Handbuch der technischen Mykologie von Fr. Lafar. Bd. I. Lief. 1. 1904.)
10) Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Lehmanns medizinische Handatlanten. Bd. X. Teil II. 1899.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

11) Maassen, A., Fruchtätherbildende Bakterien. (Arb. aus dem Kais. Gesundheitsamt. Bd. XV. 1899.)
12) Meyer, Arthur, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.
13) —, Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. (Botan. Ztg. Jahrg. LXII. 1904. Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIII. 1904.)
14) Migula, W., System der Bakterien. Bd. II. 1900.
15) Milburn, Th., Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904.)
16) Petri, R. J. und Maassen, A., Weitere Beiträge zur Schwefelwasserstoffbildung aërober Bakterien und kurze Angaben über Merkaptanbildung derselben. (Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte. Bd. VIII. 1893.)
17) Segin, A., Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903.)
18) —, Zur Einwirkung von Bakterien auf Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904.)
19) Sewerin, S. A., Ueber eine neue, in Butter Aroma bildende Bakterienart. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904.)
20) Wahrlich, Scripta botanica. Petersburg 1890/1. (Zitiert bei W. Migula, Handbuch der technischen Mykologie von Fr. Lafar. Bd. I. Lief. 1. 1904.)
21) Weigert, Schmidts Jahrbücher. 1887. (Zitiert bei W. Migula, Handbuch der technischen Mykologie von Fr. Lafar. Bd. I. Heft 1. 1904.)
22) Weigmann, H., Das Reinzuchtsystem in der Butterbereitung und in der Käserei. (Handbuch der technischen Mykologie von Fr. Lafar. Bd. II. Heft 2. 1906.)

Tafelerklärung.

Zeichnungen (Tafel I—III).

Vergrößerung: Oelimmersion $^1/_{12}$ + Kompensationsokular 8.

Tafel I Bacillus esterificans.

1.	Schwärmoidien	Agarstrich	(18 Stunden bei 37° C).
2.	„	„	(24 „ „ „ „).
3.	Sporulierende Stäbchen	„	(24 „ „ „ „).
4.	Fast reife Sporangien	„	(48 „ „ „ „).
5.	Sporangien	„	(48 „ „ „ „).
6.	Sporen	„	(48 „ „ „ „).
7.	Keimende Sporen	„	(6 „ „ „ „).
8.	Schwärmoidien, nach Zettnow gefärbt.		

Tafel II Bacillus esterificans.

9.	Zellen	einer	Gelatinestichkultur	(18 Tage bei 20° C).
10.	„	„	Kartoffelkultur	(7 „ „ 7° C).
11.	„	„	„	(12 „ „ 20° C).
12.	„	„	„	(12 „ „ 37° C).
13.	„	„	5-proz. Dextroseagartopfkultur (4 Tage bei 20° C).	
14.	„	„	anaëroben Agarstrichkultur (40 Stunden bei 37° C).	

Tafel III 15—17: Bacillus esterificans. 18—23: Pseudomonas Trifolii.

15. Volutinhaltige Zellen eines Agarstriches (12 Stunden bei 37° C und 12 Stunden bei 24° D). Methylenblau + 1 Proz. H_2SO_4.

16. Volutinhaltige Zellen eines Pepton-Molkenagarstriches (24 Stunden bei 37° C). Methylenblau + 1 Proz. H_2SO_4.

17. Volutinhaltige Stäbchen und Sporangien einer Gelatineplattenkultur (14 Tage bei 20° C).

18.	Schwärmoidien einer	Agarstrichkultur	(16 Stunden bei 37° C).
19.	„ „	Gelatinestichkultur	(3 Tage „ 20° C).
20.	„ „	„	(1 Monat „ „ „).
21.	„ „	Bouillonkultur	(24 Stunden „ „ „).
22.	„ „	Kartoffelkultur	(7 Tage „ „ „).
23.	„ nach Zettnow gefärbt.		

Photographieen (Tafel IV—V).

Tafel IV.

24. Bacillus esterificans. Tupfkolonie auf 1-proz. Dextroseagar (5 Tage bei 20° C). Vergr. 1 : 1.

25. „ „ Tupfkolonie auf Agar (1 Monat bei 20° C). Vergr. 1,5 : 1.

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Huss gez.

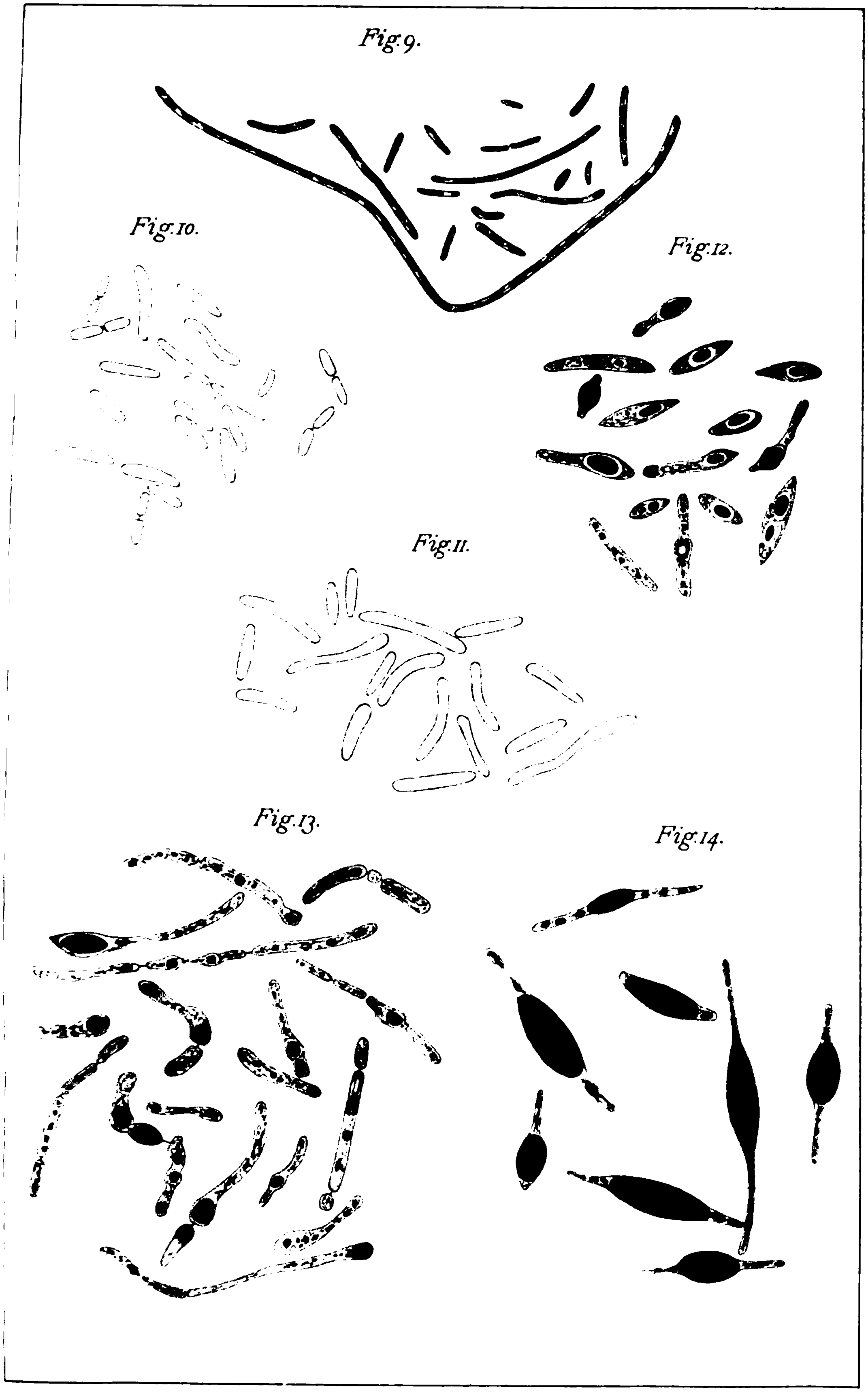
Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

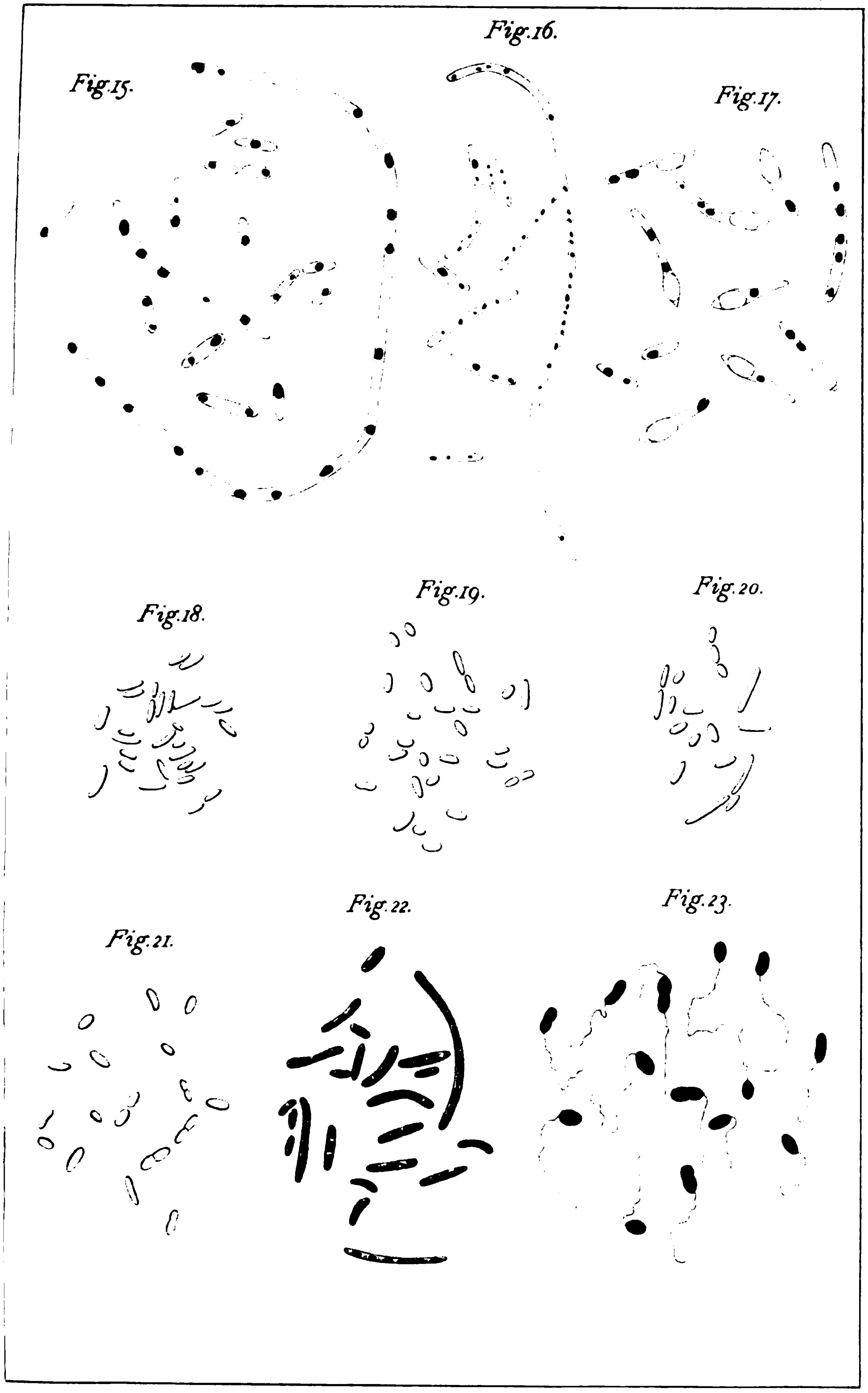


Huss gez.   Verlag von Gustav Fischer, Jena.   P. Weise, Lith., Jena.

Digitized by Google   Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY



Huss gez.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

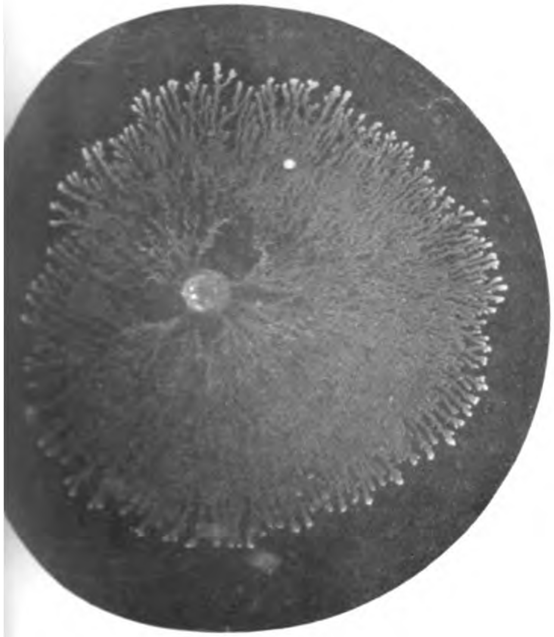


Fig. 24.

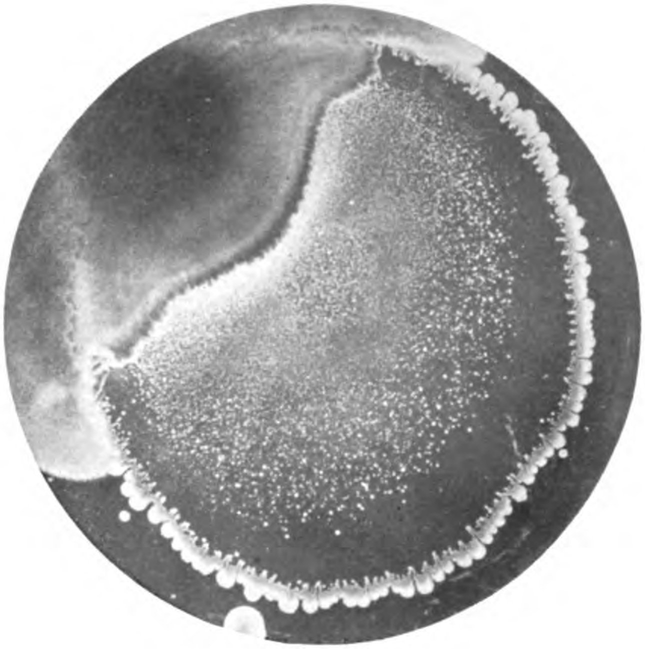


Fig. 25.

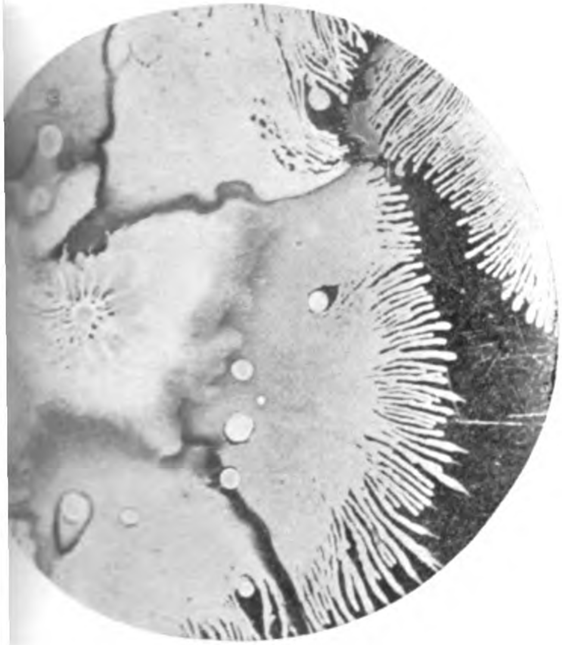


Fig. 26.

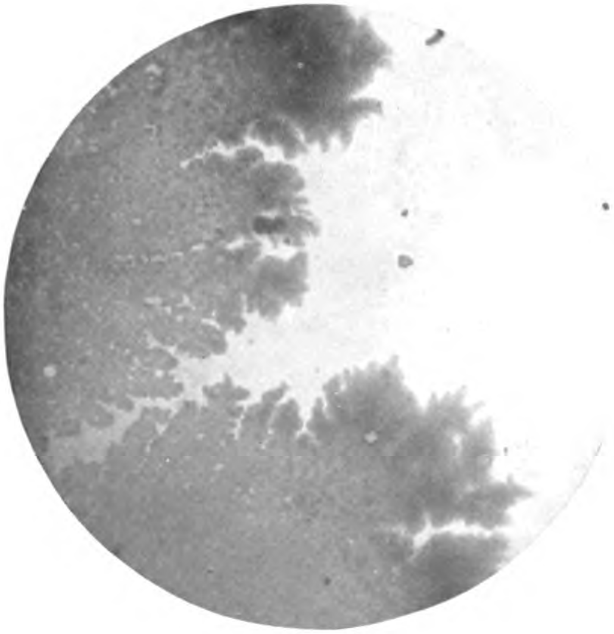


Fig. 27.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Fig. 28.

Fig. 29.

Fig. 30.

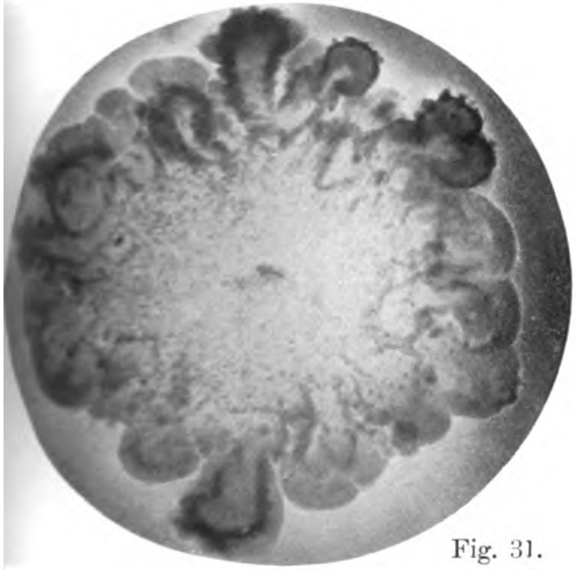


Fig. 31.

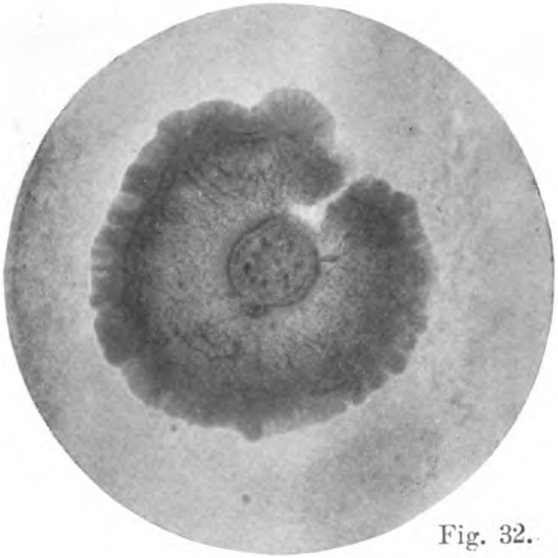


Fig. 32.

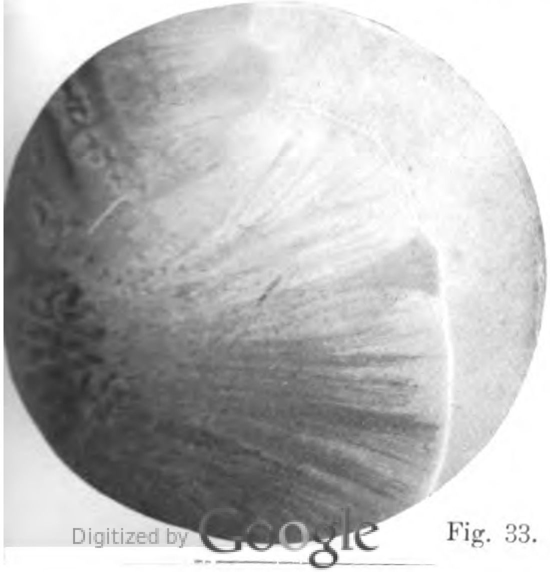


Fig. 33.

Fig. 34.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

26. **Bacillus esterificans.** Teil einer Riesenkolonie auf einer 2 Minuten in der Stallung des Tierseucheninstitutes offen gestandenen Agarplatte (24 Stunden bei 37° C). Vergr. etwa 3:1.
27. „ „ Randpartie einer Riesenkolonie auf Agar (14 Tage bei 20° C). Vergr. 90:1.

Tafel V.

28. **Bacillus esterificans.** Gelatinestichkultur (7 Tage bei 20° C).
29. **Pseudomonas Trifolii.** Gelatinestichkultur (7 Tage bei 20° C).
30. „ „ „ (20 „ „ 20° C).
31. „ „ Gelatinetupfkolonie (10 „ „ 20° C). Vergr. etwa 10:1.
32. „ „ Agartupfkolonie (12 „ „ 20° C). Vergr. 1:1.
33. „ „ „ Randpartie (12 Tage bei 20° C). Vergr. 10:1.
34. „ „ Calciumoxalatkristallbildungen in einer Gelatinetupfkultur (1 Monat bei 20° C).

Nachdruck verboten.

Zur Biochemie des Bacillus macerans[1]).

[Aus der k. k. allg. Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Wien.]

Von **Franz Schardinger,** Wien.

Nachfolgende Zeilen sollen über Versuche berichten, welche zum Zwecke eingehenderen Studiums der Verrottung von Zwetschen und der Bildung von „Zwetschengeist" durch den genannten Bacillus angestellt wurden.

I. Wirkung der Warmwasserröste auf einige Zwetschenbestandteile in quantitativer Beziehung.

3 Kolben mit je 500 g entkernten Zwetschen, 10 g $CaCO_3$ und 200 ccm Leitungswasser wurden sterilisiert.

1 Kolben blieb unverändert als Kontrollkolben (A), 2 Kolben (B und C) wurden mit Bacillus macerans geimpft. Sämtliche Kolben wurden vor dem Einstellen in den Brutraum (37°) gewogen.

In den geimpften Kolben trat rasch Gärung ein, die in fast unverminderter Intensität durch 3 Wochen anhielt. Am Ende der 4. Woche wurden die Kolben aus dem Brutraume entfernt und nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wieder gewogen.

Kolben	Gewicht vor dem Einstellen bei 37°	Gewicht nach 4-wöch. Aufenthalt bei 37°	Differenz
A	818 g	798 g	20
B	842 „	800 „	42
C	816 „	773 „	43

Wie voranstehende Tabelle zeigt, ist der Gewichtsverlust der geimpften Kolben — abzüglich des durch Wasserverdunstung bedingten Verlustes — ein ziemlich beträchtlicher. Der Inhalt von A und B wurde nun durch Zusatz von Chloroformwasser auf ein gleiches Gewicht gebracht, wohl durchgerüttelt und in je einen Meßcylinder entleert. Zum Nachspülen wurden gleiche Gewichtsmengen Wasser verwendet. Die Cylinder standen dann mehrere Tage bei Zimmertemperatur, während

1) Dieses Centralbl. Bd. XIV. 1905. p. 772.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welcher Zeit ihr Inhalt des öfteren durchgemischt wurde. Der ungelöst gebliebene Anteil nahm bei A einen Raum von ungefähr 700 ccm, bei B einen Raum von **150 ccm** ein. Die über dem Bodensatze stehende klare Flüssigkeit ist bei A schön rot gefärbt mit einem Stich in braun, bei B schmutzig braunrötlich. In aliquoten Teilen der Lösungen A bezw. B wurden Extrakt, Asche und Zucker bestimmt. (Das gesamte Gewicht bei A bezw. B betrug 1020 g.)

Der ungelöst gebliebene Teil wurde so lange mit Chloroformwasser ausgelaugt und gewaschen, bis Proben des eingedampften Filtrates keinen Rückstand mehr hinterließen. Die ausgelaugten Rückstände wurden dann mit 2-proz. Essigsäure digeriert, auf einem Filter gesammelt und mit stark verdünnter Essigsäure und heißem Wasser gewaschen, bis im Filtrat nur mehr Spuren von Ca-Verbindungen nachzuweisen waren. Der bei 100° getrocknete Rückstand wog bei A rund 8 g mit einem Aschengehalt von 3,83 Proz., bei B rund 4 g mit einem Aschengehalt von 3,24 Proz.

In diesen Rückständen wurden die Pentosane nach Tollens[1]), die „Rohfaser" nach König (Glycerin-Schwefelsäure) bestimmt.

Die erhaltenen Zahlenwerte (Prozente) sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Einzelne Bestimmungen wurden doppelt ausgeführt.

Kolben	Extrakt		Asche		Invertzucker		Rohrzucker	Pentosane		Rohfaser
A	12,17	11,83	0,56	0,55	4,91	4,98	2,3	14,5	15,1	26,1
B	9,05	8,7	0,62	0,63	2,4	2,5	0,95	6,4		15,1

Die Tabelle bedarf keines weiteren Kommentars. Die Abnahme an Zucker und der bedeutende Rückgang der Pentosane war bei der bereits bekannten Wirkungsart des Bacillus macerans zu erwarten gewesen, nicht jedoch die starke Einbuße der „Rohfaser". Es wurde deshalb ein Kontrollversuch in etwas abgeänderter Weise angestellt, zu dem mangels frischer gedörrte Zwetschen verwendet werden mußten.

Die Zwetschen wurden zunächst mit Wasser unter Zusatz von etwas $CaCO_3$ so lange ausgekocht, bis im Filtrat keine Fehlingsche Lösung reduzierende Stoffe mehr vorhanden waren. Sodann wurden die Kerne entfernt und die Schalen so weit als möglich abgelöst. Die derart präparierte Fruchtfleischmasse wurde durch Auspressen vom Wasser möglichst befreit und zu gleichen Teilen in 2 Kolben eingefüllt. Als Nährlösung diente die von Omelianski (l. c. p. 779) angegebene. Die ganze Mischung erhielt dann noch einen geringen Zusatz von $CaCO_3$. Nach vollzogener Sterilisation wurde ein Kolben mit Bacillus macerans geimpft, der zweite blieb ungeimpft als Kontrollkolben; beide Kolben wurden bei 37° aufbewahrt.

Im Laufe der Gärung sinterte das Fruchtfleisch im geimpften Kolben zusammen, die ursprünglich braune Farbe des Kolbeninhaltes schlug in gelb um.

Nach 4 Wochen wurde der Inhalt beider Kolben filtriert, das ungelöst gebliebene mit heißem Wasser und ca. 2-proz. Essigsäure so lange gewaschen, bis im Filtrat nur mehr Spuren von Calciumverbindungen nachzuweisen waren. Die Rückstände auf den Filtern wurden dann getrocknet und mittels einer „Pfeffermühle" möglichst fein vermahlen.

1) König, J., Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. 2. Aufl. 1898. p. 225.

Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Die Bestimmung der „Rohfaser" nach König hatte nachfolgendes Ergebnis:

Kontrollkolben 31,3 Proz.
Gärkolben 12,5 „

Es war also auch in diesem Versuche ein beträchtlicher Teil an „Rohfaser" vergoren.

II. Bereitung von Zwetschengeist.

5 kg entkernte Zwetschen wurden nach Zugabe von etwas $CaCO_3$ und Wasser sterilisiert und durch den Bacillus macerans vergoren. Gärdauer 3 Wochen. Die Menge des erhaltenen (rektifizierten) Destillates vom spez. Gewicht 0,94447 betrug 320 g. Ohne Rücksicht auf den Acetongehalt des Destillates würde dem spez. Gewicht ein Gehalt an Alkohol von 44,36 Vol.-Proz. bezw. 37,28 Gew.-Proz. entsprechen.

Nach P. Behrend — zitiert nach Maerckers Handbuch der Spiritusfabrikation. 1894. p. 651 — geben 100 l Zwetschen etwa 8,3 l Slivovitz von 50 Proz. Alkohol.

Die Ausbeute bleibt also hinter der ohnehin schon kargen, durch die gewöhnliche „wilde" Gärung erzielten, noch zurück. Dazu kommt ferner der mißliche Umstand, daß Sachverständige von dem Geschmack des bacillären Produktes keineswegs befriedigt wurden. Es hat sich also die Hoffnung, daß es gelingen möchte, der Slivovitzbereitung mit dem Bacillus macerans fördernd beizustehen, nicht erfüllt.

Der Gehalt des Destillates an Aceton wurde diesmal nach W. Alberda van Eckenstein und J. J. Blanksna[1]) mit p-Nitrophenylhydrazin als Aceton-p-Nitrophenylhydrazon — $C_9H_{11}N_3O_2$, Schmelzpunkt 148° C — bestimmt, und zwar in einem Versuche zu 9,4 Gew.-Proz., in einem zweiten zu 8,9 Gew.-Proz.

Das erhaltene Hydrazon zeigte einen Schmelzpunkt von 139—140°, nach Umkristallisieren aus Alkohol einen solchen von 148° C.

Das Destillat, in dem seinerzeit (l. c. p. 779) nach Messinger bezw. Robineau-Rollin ein Acetongehalt von 6,5 Gew.-Proz. gefunden wurde, ergab nach dieser Methode in zwei Bestimmungen 5,6 Proz. Aceton.

Nachdruck verboten.

Cryptosporium minimum nov. spec. und Frostbeschädigung an Rosen.

Von Dr. **R. Laubert,**
ständiger Mitarbeiter an der Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Steglitz.

Mit 3 Figuren im Text.

Den auf den gärtnerischen Zierpflanzen auftretenden Pilzen ist bisher von vielen Mykologen weniger Beachtung geschenkt worden, als den Pilzen, die an unseren einheimischen, wilden Pflanzen vorkommen. In Saccardos Sammelwerk, soweit dasselbe bis jetzt erschienen (Bd. I—XVIII), finden sich zwar 300 Pilze (hiervon sind allerdings ein Teil Synonyme) beschrieben, die auf Rosenarten gefunden worden sind; die Zahl der in den phytopathologischen Werken berücksichtigten, speziell

1) Chem. Centralbl. Bd. I. 1904. p. 14.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf Gartenrosen vorkommenden Pilzarten ist jedoch verhältnismäßig sehr klein. So konnte vor 2 Jahren auf eine verbreitete und praktisch wichtige, durch ein Coniothyrium hervorgerufene Rosenkrankheit hingewiesen werden [1]), über die bis dahin noch keine ausführlicheren Untersuchungen in der Literatur vorlagen. Im folgenden soll ein anderer, auf Rosen gefundener parasitärer Pilz besprochen werden, der als neu anzusehen ist, da er mit keiner der von Saccardo angeführten, auf Rosen beobachteten Arten übereinstimmt.

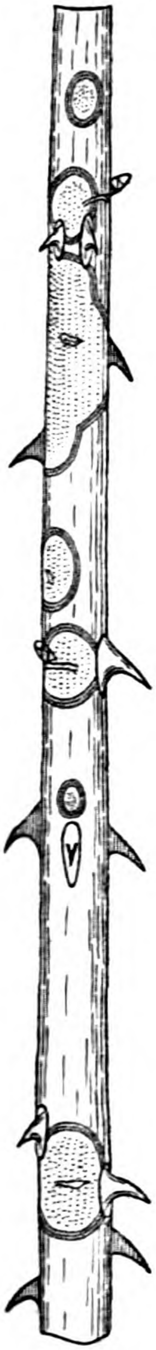
An Kletterrosen fand ich Ende März an abgestorbenen, augenscheinlich durch die vorausgegangene ungewöhnliche Winterkälte erfrorenen vorjährigen Zweigen Flecke, die sich durch ihre gelblich-graubraune Farbe von den übrigen Teilen der Rinde unterschieden. Bei genauerer Betrachtung ließen sich auf den Flecken der Rinde, und zwar nur auf diesen, zahllose isolierte, aber ziemlich dicht stehende, weiße Pünktchen wahrnehmen. Bei Besichtigung mit einer Lupe erwiesen sich diese weißen Pünktchen als winzige, weiße Sporenranken eines Pilzes, von denen eine jede aus einem sehr kleinen, mit unbewaffnetem Auge kaum wahrnehmbaren, runden, dunklen, punktförmigen Fleck hervorkam. Die Sporenranken sowie Quer- und Längsschnitte durch die sie tragenden Rindenpartieen wurden mikroskopisch untersucht. Ueber das Ergebnis wird weiter unten berichtet werden.

Da der Pilz ausschließlich auf besonderen Flecken der Rinde zu finden war und die betreffenden Zweige offenbar erst vor verhältnismäßig kurzer Zeit abgestorben waren, so lag der Verdacht nahe, daß der Pilz vielleicht kein spezifischer Saprophyt sei, sondern die Zweige bereits zu einer Zeit befallen hatte, als sich dieselben noch am Leben befanden. Bald darauf, Anfang April, glückte es auch, denselben Pilz auf lebenden Zweigen von Kletterrosen [2]) aufzufinden, die in etwa 200 m Entfernung von den zuerst erwähnten Rosen standen. Auch in diesem Fall fand sich der Pilz nur auf besonderen Rindenflecken. Die Rinde der Zweige sah im übrigen normal und grün aus, und die Knospen fingen bereits an auszutreiben. Wie Fig. 1 zeigt, waren die Flecke regellos an den Zweigen zerstreut, doch ließ sich erkennen, daß häufig, aber keineswegs immer, in der Mitte des Fleckes eine kleine Verletzung der Rinde vorhanden war, die augenscheinlich durch Scheuern am Zaun oder an den Stacheln benachbarter Zweige oder dergleichen entstanden war. Diese Verletzungen waren offenbar die Eingangspforten des Pilzes gewesen. Die Flecke selbst waren von dunkler, schwärzlicher Farbe, so daß sich die weißen Sporenranken deutlich davon abhoben und meist von runder Form und verschiedener Größe, $^1/_4$ bis $1^1/_2$ cm breit, oft auch durch Verschmelzen benachbarter Flecke größere Dimensionen erreichend. Bereits aus Flecken, die erst 3 mm Durchmesser erlangt hatten, waren Sporenranken zum Vorschein gekommen. Die Sporenranken waren so klein und standen so dicht, daß auf einen Quadratzentimeter ein paar hundert Ranken kamen. Vielfach waren die Flecke von einem hofartigen, nicht scharf abgesetzten, breiten, trüb purpurn gefärbten Saum umgeben. Bei größeren älteren Rindenflecken war die schwarze Farbe zum größten

1) Arbeiten aus der Biolog. Abteil. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. IV. p. 458—460; ferner Rosenzeitung. Jahrg. XX. p. 19—21; Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. Bd. VIII. p. 660—666; Gartenwelt. Jahrg. XI. p. 332—334, 357—358, 378—380.

2) Es handelte sich um eine wohl zu Rosa multiflora Thbg. gehörigen Büschelrosenrasse.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



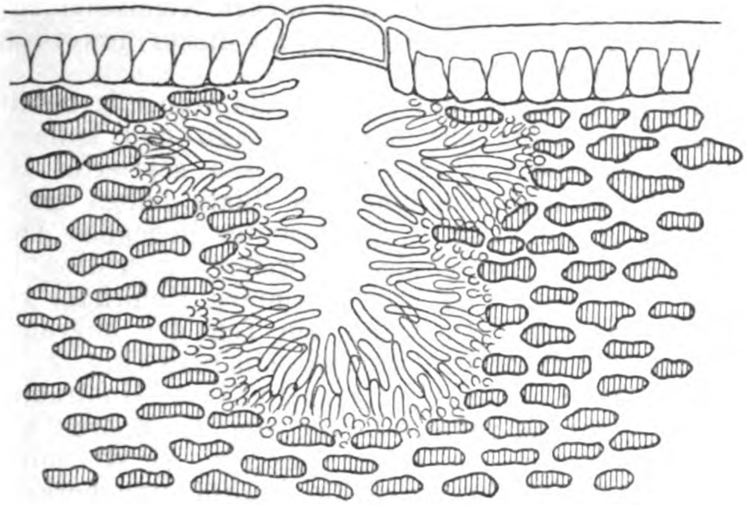


Fig. 2.

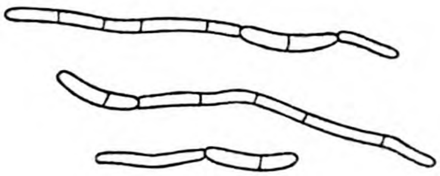


Fig. 3.

Fig. 1.

Fig. 1. Rosenzweig mit dunkelumsäumten Flecken, auf denen die äußerst kleinen Sporenranken des Cryptosporium minimum sichtbar sind. Nat. Größe. (Laubert gez.)

Fig. 2. Längsschnitt durch die Rosenrinde mit einem Konidienlager des Cryptosporium minimum. (Laubert gez.)

Fig. 3. 3 gekeimte Konidien des Cryptosporium minimum. (Laubert gez.)

Teil in einen holzfarbig gelb-grau-braunen Farbenton übergegangen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die weißen Sporenranken aus farblosen, einzelligen, gekrümmten, wurstförmigen Sporen bestehen, deren Inhalt zahlreiche kleine Fetttröpfchen enthält. Die Länge der Sporen beträgt 16,5—27,5 μ, die Breite 2,2—3,8 μ (Leitz-Mikroskop, Obj. 8 u. Okul. 2). (Auffallend ist, daß sich die schmäleren Sporen in Methylviolettlösung entschieden schneller färben als die dickeren Sporen.) Auf den Objektträger in einen Tropfen Wasser ausgesät, in dem kleine Rindenstückchen von Rosenzweigen lagen, und in einer feuchten Kammer

aufbewahrt, zeigten sich nach zwei Tagen sehr viele Sporen ausgekeimt. Meist war an einem Ende der Spore, zuweilen an beiden Enden, selten seitlich ein septierter, etwa 3 μ dicker Keimschlauch hervorgewachsen. Die Sporen selbst waren dabei kaum dicker geworden und hatten eine Querwand erhalten (Fig. 3).

Quer- und Längsschnitte durch die vom Pilz befallene Rinde zeigen, daß die Rindenzellen abgestorben, braun und kollabiert sind und daß das Rindengewebe von zarten farblosen septierten Hyphen durchzogen ist. Die Fruktifikationsorgane des Pilzes haben sich stets unmittelbar unter einer Spaltöffnung in der darunter liegenden Atemhöhle entwickelt, die dadurch eine beträchtliche Erweiterung erlitten hat und zu einem etwa kugelförmigen oder kreiselförmigen Hohlraum von 0,15 mm Breite und Tiefe geworden ist, wobei ein Teil der angrenzenden Parenchymzellen von Pilz resorbiert worden sein mag (Fig. 2).

Die Wände dieses pyknidenähnlichen Hohlraumes sind von der Hymenialschicht ausgekleidet, von der die Sporen abgeschnürt werden. Die Sporen werden zu einer winzigen, wurstförmigen, weißen Ranke vereinigt und verklebt durch die Spaltöffnung herausgepreßt. Da eine eigentliche, die Hymenialschicht umgebende Peridie nicht vorhanden ist, so können die Fruktifikationsorgane nicht als Pykniden bezeichnet werden. Die Sporenranken sind sehr dünn (etwa 0,04 mm), aber infolge ihrer schneeweißen Farbe schon mit bloßem Auge wahrnehmbar. Sie erreichen zuweilen eine Länge von 1 mm und mehr und treten nicht nur bei Aufbewahrung in der feuchten Kammer auf, sondern auch im Freien, auch bei anhaltend trockener Witterung. In besonders großer Menge beobachtete ich sie an den befallenen Rosen gegen Ende einer regenlosen Periode am 16. April. Die Lebensdauer bezw. die Dauer der Konidienerzeugung jedes einzelnen Fruchtkörpers (sit venia verbo) ist im Vergleich zu vielen anderen zweigbewohnenden Pilzen verhältnismäßig kurz und dürfte für gewöhnlich nicht mehr als 1—2 Wochen betragen.

Die Einreihung des Pilzes in eine bestimmte Gattung stößt auf Schwierigkeiten. Der Pilz hat Aehnlichkeit einerseits mit Septoria, Rhabdospora, Phlyctaena, andererseits mit Cylindrosporium, Cryptosporium, Libertella. Von den drei ersteren unterscheidet er sich unter anderem dadurch, daß die Hymenialschicht sich nicht innerhalb einer eigentlichen, durch eine besondere Peridie begrenzten Pyknide befindet, sondern unmittelbar einen Hohlraum der Wirtspflanze bekleidet. Von den letztgenannten Gattungen — die Cylindrosporium-Arten scheinen alle auf Blättern, die Cryptosporium- und Libertella-Arten auf Stengeln und Zweigen vorzukommen — ist auf Rosen nur ein Pilz bekannt, nämlich Libertella Rosae Desm. Nach der vorhandenen Abbildung und Beschreibung (Rabenhorst-Allescher, 7. Abteil. p. 738—739) ist derselbe von dem hier besprochenen Pilz durchaus und in mehrfacher Hinsicht verschieden (viel größere, orangerote Sporenlager und viel kleinere Sporen). Obgleich er von deren Typus etwas abweicht, paßt der fragliche neue Rosenpilz wohl am ehesten in die Gattung Cryptosporium Kunze, und er mag daher dieser als Cryptosporium minimum zugerechnet werden.

Diagnose: „Cryptosporium minimum nov. spec. Hymenialschicht farblos, die erweiterten Atemhöhlen der Nährpflanze bekleidend, wodurch pyknidenähnliche Gebilde von etwa 150 μ Breite und Tiefe entstehen. Konidien farblos, einzellig, gekrümmt, wurstförmig, mit zahlreichen kleinen Fetttröpfchen, 16,5—27,5 μ lang, 2,2—3,8 μ breit, zu

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr kleinen weißen Sporenranken vereinigt durch die Spaltöffnungen austretend.

Fruktifikationsorgane herdenweise auf nekrotischen, schwarzen, später graubraun werdenden, rundlichen, oft purpurn umsäumten Rindenflecken von meist 1—2 cm Durchmesser.

Parasitär auf mehr oder weniger durch Frost geschädigten Zweigen von Kletterrosen (wahrscheinlich Rosa multiflora Thbg.) bei Dahlem, April 1907".

Es ist nötig, hier auf noch eine weitere Eigentümlichkeit der beschädigten Rosen hinzuweisen. Beim Durchschneiden der Zweige ließ sich vielfach schon mit bloßem Auge eine Bräunung der inneren, dem Holzkörper zunächst liegenden Schichten der Rinde erkennen, obwohl die Zweige äußerlich ein unversehrtes normales gesundes Aussehen aufwiesen. Es handelte sich hier offenbar um „verborgene", äußerlich unsichtbare Frostbeschädigungen, wie sie an Rosen und auch an vielen anderen Pflanzen nicht selten vorkommen. Zu Beginn des Frühjahrs scheinen die Zweige den Winter glücklich überstanden zu haben; sie zeigen äußerlich keine Frostbeschädigungen, die Knospen sind meist anscheinend unversehrt und beginnen zum Teil bereits zu treiben — bis dann im Laufe des April oder auch noch später ziemlich plötzlich ein großer Teil der Zweige an den Folgen der inneren Frostbeschädigung unvermutet abstirbt. Manchmal ist allerdings schon kurz vorher eine mehr oder weniger dunkle, verdächtige, schwach purpurne Verfärbung der Rinde wahrzunehmen, und der erfahrene Gärtner wird vielfach, schon ehe das definitive Absterben der Zweige eintritt, zu erkennen vermögen, daß hier Schädigungen stattgefunden haben, daß die Rosen bereits „den Tod in den Knochen haben", wie ein gelegentlich geäußerter drastischer Ausdruck lautet. Die mikroskopische Untersuchung von Quer- und Längsschnitten durch solche Stellen der Zweige, an denen die innerliche Bräunung der Rinde makroskopisch nur ganz unbedeutend ist, zeigt, daß besonders in den breiten Rindenstrahlen und in bestimmten Schichten des Phloëms, jedoch nicht speziell im Kambium, zerstreut liegend einzelne Zellen und Zellgruppen kollabiert und intensiv braun gefärbt sind.

Es ist nun sehr bemerkenswert, daß das Cryptosporium gerade an solchen Sträuchern aufgetreten war, die durch Frost geschädigt worden waren. Wie das ganz zweifellos gar nicht selten der Fall ist, worauf besonders von Sorauer vielfach hingewiesen worden ist, besteht offenbar auch hier ein Zusammenhang zwischen Frostbeschädigung und Pilzbefall, bezw. eine durch den Frost hervorgerufene Verminderung der Widerstandsfähigkeit der Pflanze, eine Prädisposition gegenüber den Angriffen schädlicher Pilze. Der Pilz hatte sich keineswegs nur auf solchen Zweigen angesiedelt, die so stark durch den Frost geschädigt waren, daß sie infolge der erlittenen Frostbeschädigung sowieso später abstarben. Er fand sich vielmehr auch an solchen einjährigen Zweigen, die nur so wenig durch den Frost gelitten hatten, daß sie sich am Leben erhalten und im Laufe des April und Mai lebensfähige, gesunde neue Triebe entwickeln konnten. In anderen Fällen dagegen war das Absterben mancher Zweige offenbar vornehmlich durch die Angriffe des Pilzes hervorgerufen.

Daß eine durch Frost hervorgerufene innere krankhafte Disposition der Pflanzen für Pilzkrankheiten häufiger vorkommt und eine größere Bedeutung hat, als z. Z. noch von den meisten Pflanzenpathologen ge-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glaubt wird, wird sich nicht leugnen lassen[1]), wenn es auch bis jetzt noch nicht für jeden einzelnen Fall geglückt ist, im einzelnen klarzulegen, welche physiologischen bezw. chemischen Aenderungen der Pflanze es denn eigentlich sind, durch die die Pilzentwickelung auf den frostbeschädigten Pflanzenteilen erleichtert und begünstigt wird.

Nachdruck verboten.

Die Blattfleckenkrankheit des Efeus.

Von **H. Diedicke**, Erfurt.

Mit 1 Tafel.

Schon seit mehreren Jahren habe ich auf den Friedhöfen, in den städtischen Anlagen und in Privatgärten in Erfurt eine immer mehr zunehmende Fleckenkrankheit der Efeublätter beobachtet, bin auch von mehreren Seiten um Mittel zu ihrer Bekämpfung befragt worden, ohne eine genügende Erklärung für ihre Entstehung geben zu können, da die auf den kranken Blättern gefundenen Fruchtkörper sehr oft keine reifen Sporen enthielten. Erst während des Jahres 1906, wo ich seit April dauernd solche kranke Blätter in feuchten Petri-Schalen im Zimmer hielt, ist es mir möglich geworden, die betreffenden Krankheitserreger genauer zu studieren und Kulturversuche mit ihnen anzustellen, die den Zweck hatten, zunächst festzustellen, welche Pilze die Erkrankung hervorzurufen im stande sind. Die Resultate dieser Untersuchungen sollen im folgenden veröffentlicht werden — einmal, um berufenere Kreise auf die Krankheitserreger aufmerksam zu machen, ferner, um zu Versuchen bezüglich der Bekämpfung der Krankheit anzuregen. Zu solchen Versuchen fehlen mir leider Raum und Gelegenheit.

Die Klagen über solche Efeukrankheiten sind nicht neu. Crié berichtet über eine Erkrankung der Efeublätter im Jardin des plantes in Caen[2]). Die durch Depazea hederaecola verursachten Blattflecke sind scharf begrenzt und fallen später aus, so daß sie den Eindruck von Raupenfraß machen. Da der Pilz nur an einer einzigen Stelle auftritt, fragt sich Crié, ob er nicht Entwickelungsform eines anderen in der Nähe vorkommenden Pilzes ist. — Allescher findet als Erreger von Blattflecken auf dem Efeu mehrere ganz verschiedene Pilze[3]): Macrophoma cylindrica (Desm.) Berl. et Vogl., Vermicularia trichella Fr., Gloeosporium paradoxum (de Not.) Fuck., das ist die Konidienform von Trochila Craterium (DC.) Fr., und Septoria Hederae Desm. Damit ist aber, sagt er weiter, deren Zahl noch lange nicht erschöpft: Phyllosticta hedericola Dur. et Mont., Ph. Hederae Sacc. et Roum., Ph. concentrica Sacc., Colletotrichum gloeosporioides Penz. var. Hederae Passer. könnten ebenso wie in den benachbarten Ländern in Deutschland gefunden werden. — P. Magnus[4]) fand zunächst unentwickelte Fruchtkörper einer

---

1) Vergleiche auch: Ueber eine Einschnürungskrankheit junger Birken. (Arbeiten aus der Kais. Biolog. Anstalt. Bd. V. p. 211—212.)

2) Crié, M. L. A., Note sur un cas fréquent de destruction des feuilles chez l'Hedera Helix L. (Bull. d. l. Société Linnéenne de Normandie. T. VII. 1874.)

3) Allescher, A., Zur Blattfleckenkrankheit des Efeus. (Zeitschr. f. Pfl.-Krankh. Bd. V. 1895. p. 142—143.)

4) Magnus, P., Zur Efeukrankheit. (Gartenflora. 1895. p. 21 u. 41.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Phoma oder wahrscheinlicher einer Phyllosticta, die er später als Ph. Hederae Sacc. et Roum. bestimmt, sodann Vermicularia trichella Fr., die er nicht, wie Sorauer, für eine sekundäre Erscheinung, sondern für die eigentliche Ursache der Erkrankung ansieht. In einer weiteren Mitteilung bezeichnet er allerdings Phyllosticta Hederae als häufigste Ursache der Erkrankung. Phoma cylindrospora, die oft mit ihr gesellschaftlich auftreten soll, hat er nicht gefunden. — Sorauer[1]) bestimmt den gefundenen Pilz in Uebereinstimmung mit Saccardo als eine Phoma und hält die auf nassen Efeublättern ebenfalls häufig gefundene Vermicularia trichella für nicht schädlich, so daß er diesen Pilz in seinem früher gehaltenen Vortrag (am 29. Nov. 1894) übergangen hat.

Die Arbeit von M. C. Cooke über Pests of ornamental shrubbery (Journ. Roy. Horticult. Soc. London, 1904) war mir leider nicht zugänglich, sie enthält neben den Schilderungen der Krankheiten auch Abbildungen von Phyllosticta hedericola und anderen Pilzen.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle den Herren Prof. Dr. Saccardo für eingehende Untersuchung der eingesandten Pilze und H. Sydow für Literaturnachweis und Ueberlassung von Vergleichsmaterial, sowie Fräulein M. Frankenhäuser für unermüdliches Herbeischaffen von krankem und gesundem Material meinen herzlichsten Dank zu wiederholen.

I. Die Krankheitserscheinungen.

Die Krankheit tritt hier in Erfurt nur an den Blättern auf; Blattstiele und Zweige habe ich niemals mit Flecken besetzt gefunden, nur in den später zu erwähnenden Kulturen ging einer der kultivierten Pilze auch auf die Blattstiele über[2]).

Auf den Blättern wurden überhaupt folgende Pilze gefunden:

1) Phyllosticta hedericola Dur. et Mont.

2) Phyllosticta hederacea (Arc.) Allesch.

3) Vermicularia trichella Fr.

4) Eine Phyllosticta- oder Phoma-Art mit sehr kleinen, stäbchenförmigen Sporen in ziemlich großen Pykniden. Da sie, wie die folgenden aufgeführten Arten, nur ganz selten gefunden wurde, blieb sie mit diesen bei der weiteren Bearbeitung außer Betracht.

5) Eine andere (?) Phoma-Art in fast $^1/_2$ mm im Durchmesser haltenden Pykniden, die mit offenem, kreisrundem Porus die Epidermis durchbohren. Die cylindrischen Sporen messen 13 : 2,6 μ, sind also bedeutend größer und ähneln unentwickelten Sporen einer Ascochyta, die ich von Herrn H. Sydow mit anderem Vergleichsmaterial zugeschickt bekam (sub Pyllosticta hedericola Dur. et Mont. — S. Fiel, Portugal, leg. Zimmermann).

6) Als einziger Askomycet eine Pleospora-Species, nach den sehr eingetrockneten Sporen zu schließen.

7) Auf manchen Flecken der beiden zuerst genannten Pilze, oft direkt auf den Mündungen ihrer Pykniden, waren öfter braune Borsten zu finden. Sie entspringen aber einem braunen, unter der Epidermis

---

1) Sorauer, Einige Bemerkungen zu den von Prof. Magnus gegebenen Mitteilungen über eine Efeukrankheit. (Gartenflora. 1895. p. 186.)

2) An Material aus Weimar fanden sich später auch die älteren Blattstiele öfter mit Vermicularia trichella besetzt.

Digitized by Google | Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kriechenden Mycel und sind als Konidienträger eines Cladosporium aufzufassen, das an anderen Stellen reichlich wucherte.

Die drei erstgenannten waren die häufigsten, und ich glaubte mich bei der weiteren Untersuchung um so mehr auf sie beschränken zu können, da die übrigen auch nie selbständig fleckenbildend auftraten, sondern stets mit den ersten gesellschaftlich resp. in deren Flecken vorkamen. Die Beschreibung der drei weiterhin in Frage kommenden Pilze gebe ich möglichst ausführlich, um eine genaue Untersuchung derselben möglich zu machen.

1. Phyllosticta hedericola Dur. et Mont.

Blattflecke einzeln oder mehrere auf einem Blatt, zunächst rund, später unregelmäßig werdend, die Nerven überschreitend, von sehr verschiedener Größe, in der Mitte zuletzt grau, nach dem Rande mit einem breiten, nach außen dunkler werdenden braunen Saum umgeben, scharf begrenzt, aber am Rande nicht wulstig verdickt, in der grünen Blattmasse außerdem gewöhnlich von einem gelblichen, durchscheinenden Hofe umgeben, auf der Unterseite grünlich-braun.

Fruchtgehäuse auf dem ganzen Fleck, besonders nach dem dunklen Rande hin, massenhaft verbreitet, die Epidermis emporwölbend, aber nicht durchbrechend, daher im auffallenden Lichte nach der Lichtseite zu als helle Pusteln erscheinend, im Blattgewebe fest haftend, so daß es kaum möglich ist, sie von anhaftenden Zellen des Gewebes völlig zu isolieren, linsenförmig, von lockerem Gewebe, gelb- bis (später) dunkelbraun, mit einem runden Porus sich öffnend.

Sporen massenhaft austretend, länglich, abgerundet, hyalin, oft etwas gekrümmt, 5—6 μ lang, $2^1/_2$ μ breit. — Die Sporen werden durch den Porus der Pykniden nicht direkt ins Freie entlassen, da derselbe die Oberhaut nicht völlig durchbohrt, sondern bleiben zunächst unter der Cuticula, bis durch ihre Anhäufung ein unregelmäßiger Riß in derselben entsteht, durch den sie dann austreten können. Bei Blättern, die längere Zeit in feuchten Schalen gehalten waren, schien das Durchbrechen der Cuticula nicht mehr so große Schwierigkeiten zu bereiten, und die Folge war, daß hier auch ein Austreten der Sporen in Ranken beobachtet werden konnte, was bei trocknen Blättern nicht der Fall ist.

2. Phyllosticta hederacea (Arc.) Allesch. = Phoma hederacea Arc.

Flecke fast kreisrund, scharf begrenzt, nicht dunkel berandet, aber von einer hellbraunen, wulstig verdickten Randlinie umgeben, auf der Oberseite wegen der fast stets abgehobenen Oberhaut weißlich, unten ockergelb bis gelbbraun, ohne grünlichen Anflug. Die Flecke dieses Pilzes kommen fast nie für sich allein vor, sind vielmehr meist in einen Fleck des vorher beschriebenen ganz oder teilweise eingewachsen, aber auch gegen diesen durch die erwähnte Randlinie scharf abgegrenzt.

Pykniden über den ganzen Fleck zerstreut, von dichterem Gewebe als bei vorigem Pilze, dunkelbraun, nach dem runden, etwas verdickten Porus zu noch dunkler, fast kugelig oder von oben etwas zusammengedrückt, gewöhnlich kleiner als bei voriger Art, etwa 60—120 μ Diam., einige jedoch viel größer, 150—180 μ Diam. Da die Pykniden mit ihrem Porus die Oberhaut wirklich durchbohren, erscheinen sie dem bloßen Auge oder unter der Lupe gesehen schwarz; sie haften lose an der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Oberhaut und nur sehr locker an dem umgebenden Blattgewebe, sind daher leicht von letzterem zu isolieren.

Die Sporen werden, da der Porus der Pykniden über die Oberhaut hinausragt, in Ranken ausgestoßen; sie sind im Durchschnitt etwas kleiner als an voriger Art, in der Form aber mit ihnen übereinstimmend, nur ganz selten etwas gekrümmt.

Bezüglich der Nomenklatur resp. systematischen Stellung dieser Pilze befinde ich mich nicht ganz in Uebereinstimmung mit Saccardo und Sydow. Der erstere schreibt mir: „Après examen de votre Phyllosticta et comparaison avec Ph. hedericola et Phoma hederacea nous sommes persuadés (d. i. Prof. Saccardo und sein Assistent Dr. Traverso) que soit ces espèces, soit vos 3 specimina soient des formes à peine distinguables d'une seule espèce qui doit conserver le nom de Phyll. hedericola Dur. et Mont. Si vous trouverez des différences constantes en nature, vous pourrez distinguer, mais je doute beaucaup.“ Und auch Herr H. Sydow hat stets bezweifelt, „daß Ph. hedericola und Ph. hederacea zwei gute Arten darstellen . . . Vielleicht sind es nur Formen einer Art? Zur Entscheidung dieser Frage können nur Kulturversuche Aufschluß geben.“ Meiner Meinung nach sind beide Pilze auch morphologisch genügend scharf charakterisiert, um als gute Arten zu gelten; die verschiedene Fleckenbildung, die Lagerung der Pykniden im Gewebe, die Durchbohrung der Epidermis beim zweiten Pilz und das dadurch bedingte verschiedenartige Austreten der Sporen sind konstante Merkmale, die das Festhalten an den zwei oben angeführten Arten wohl rechtfertigen können. Bestärkt werde ich in dieser Ansicht durch das weiter unten auszuführende biologische Verhalten beider Pilze.

3. Vermicularia trichella Fr.

Flecke fast kreisrund oder den Nerven entlang etwas verlängert, dunkelbraun, nach der Mitte zu heller werdend, auf der Unterseite nicht grünlich, beim Stillstand des Wachstums, also beim Eintreten trockener Witterung, von einer braunen, verdickten Randlinie scharf umgrenzt, später durch Neuinfektion sich weiter ausbreitend und dann dunkelbraun, ohne wulstigen Rand, aber mit scharfer Grenze sich allmählich über das ganze Blatt ausbreitend (was bei den beiden vorigen Pilzen nie vorkommt).

Fruchtkörper auf den kleineren Flecken in konzentrischen Ringen stehend, auch auf den völlig gebräunten Blättern oft in dieser Weise angeordnet, auf letzteren aber auch häufig über die Blattfläche zerstreut, in trockenem Zustande durch die Lupe betrachtet schwarz, in feuchtem Zustande durch die hervorquellenden Sporenmassen in der Mitte weißlich, rund oder etwas in die Länge gezogen, von Borsten umgeben oder mit ihnen besetzt. Diese Borsten sind starr, gerade oder an frisch entstandenen Fruchtkörpern etwas hin und her gebogen, unten dunkel rußfarbig, nach der Spitze zu heller werdend, nicht septiert oder dicht am Grunde mit einer Querwand, 91—156 μ lang. — Die Fruchtkörper entstehen bei diesem Pilze auch auf den gebräunten und schlaff gewordenen Blattstielen; hier sind sie gewöhnlich länglich, auf den Blättern aber rund; an den stielbewohnenden stehen sehr häufig die Borsten auf dem Scheitel oder über den ganzen Fruchtkörper zerstreut, auf den Blättern regelmäßig rings um denselben herum; bei den blattbewohnenden verschwindet das Gehäuse durch die hervorquellenden Sporen gewöhnlich

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vollständig, so daß man den Eindruck eines Colletotrichum-artigen Pilzes hat (s. unten).

Sporen in dichten Massen zwischen den Borsten hervorquellend, Sporenträger hyalin, fadenförmig oder etwas keulenförmig, ungefähr von der halben Länge der Sporen. Diese sind hyalin, mit feinkörnigem Inhalt, beidendig zugespitzt und etwas sichelförmig gekrümmt, 21—29 μ lang, 4 μ breit.

Ich hatte zunächst nur blattbewohnende Exemplare dieses Pilzes gefunden und ihn des fehlenden Fruchtgehäuses wegen als Colletotrichum gloeosporioides Penz. var. Hederae Passer. bestimmt. Die Beschreibung dieses Pilzes in Rabenhorsts Kryptogamenflora stimmt auch im ganzen mit meinen Beobachtungen überein, nur die Sporen werden dort kürzer und breiter angegeben. Herr Prof. Saccardo bestimmte ihn aber mit Sicherheit als Vermicularia trichella, und nachdem ich auch die stielbewohnende Form gefunden habe, kann ich ihm nur zustimmen. Nicht nur die beiden hier behandelten Formen, sondern die Gattungen Vermicularia und Colletotrichum sind jedenfalls so nahe verwandt, daß es in manchen Fällen schwer sein wird, die Zugehörigkeit eines Pilzes zu dieser oder jener Gattung sicher festzustellen. Vielleicht hat auch H. Sydow recht, der annehmen möchte, daß Vermicularia trichella forma Hederae und Colletotrichum gloeosporioides var. Hederae miteinander identisch resp. nur Wachstumsformen einer Art sind.

II. Infektionsversuche.

Durch Infektionsversuche mußte zunächst festgestellt werden, welche Pilze überhaupt im stande sind, die Blattfleckenkrankheit des Efeus hervorzurufen. Da nun die Infektion gesunder Blätter, die im Oktober 1906 mit den drei beschriebenen Pilzen vorgenommen wurden, ein völlig negatives Resultat ergaben, wurden im November neue Infektionen an verletzten Blättern eingeleitet. Es wurden frisch gepflückte, gesunde Efeublätter verwandt, bei denen an je zwei symmetrisch liegenden Stellen mit einem jedesmal frisch abgezogenen Rasiermesser die Epidermis (wohl auch einige der darunter liegenden Pallisadenzellen) abgeschält wurde. Dann wurden bei den Phyllosticta-Arten mit ausgeglühten Nadeln und Messerchen einzelne Pykniden losgelöst, in Wassertropfen zerquetscht, und von den Tropfen, nachdem ich mich überzeugt hatte, daß sie Sporen enthielten, etwas auf die Wunde gebracht. Von Vermicularia, deren Sporenmassen man schon mit der Lupe deutlich erkennen kann, wurden gleich mit dem Messerchen Sporen abgehoben und auf die Wundstellen gebracht. Die infizierten Blätter wurden dann in Petri-Schalen feucht gehalten.

1) Mit Phyllosticta hedericola wurden in dieser Weise 4 Blätter infiziert am 9. November 1906.

17. Nov. Auf einer Stelle guter Erfolg: ein runder, schwarzbrauner Fleck.

21. Nov. Der Fleck ist $2 \times 1\frac{1}{2}$ cm groß geworden. Sehr breiter dunkler Rand, in der Mitte heller, unten grünlich-ocherfarbig.

25. Nov. Der Fleck nimmt unregelmäßige Gestalt an; er zieht sich an den Nerven entlang weiter nach außen und ist etwa 30×27 mm groß. Es haben sich Pykniden gebildet, die auf dem mittleren, hellen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Teil und in dem braunen Rand zerstreut sitzen. Auch die Unterseite ist mit Pykniden besetzt.

30. Nov. Auf einem zweiten Blatt Erfolg.

5. Dez. Auf einem dritten Blatt Erfolg.

7. Dez. Auf 3 Blättern an vier Stellen ist Erfolg eingetreten.

Mit den aus diesen Versuchen gewonnenen Sporen wurden in derselben Weise am 25. November noch einmal vier verwundete Blätter geimpft, ebenso vier nicht verletzte. Bis zum 6. Januar 1907 war nirgends Erfolg eingetreten.

2) Mit Sporen von Phyllosticta hederacea wurden am 9. November gleichfalls 4 Blätter an je zwei verwundeten Stellen infiziert. Es waren vom 21. November an an einzelnen Blättern wohl um die Infektionsstellen herum gelblich durchscheinende Stellen bemerkbar, Mycel wurde aber nicht im Gewebe gefunden, die eigentliche Fleckenbildung unterblieb auch, so daß nirgends bis zum 16. Dezember Erfolg zu konstatieren war.

3) Sporen von Vermicularia trichella wurden am 2. Dezember in der oben beschriebenen Weise auf sechs an je zwei Stellen verwundete Blätter gebracht.

7. Dez. Der Rand der Wundstelle färbt sich an zwei Stellen dunkelbraun.

16. Dez. An 9 Impfstellen Erfolg. Bei drei davon sind schon Fruchthäufchen vorhanden. Flecke und Sporen typisch Vermicularia. In einigen Fällen haben sich schon braune Stellen neben dem ursprünglichen Flecken gebildet, ein Zeichen, daß die Entwickelung (durch Neuinfektion?) sehr schnell fortschreitet.

22. Dez. Nur auf einem Blatt kein Erfolg eingetreten. Die Flecke verbreiten sich über die ganzen Blätter.

Mit den aus diesen Versuchen gewonnenen Sporen wurden am 17. Dezember zunächst weitere Infektionen an gesunden, unverletzten Blättern ausgeführt. Kein Erfolg.

Am 11. Januar 1907 wurden nochmals 2 gesunde Blätter in der Weise behandelt, daß 2 Blätter, die über und über mit Fruchthäufchen von Vermicularia besetzt waren, einfach darauf gelegt und durch Fließpapier festgehalten wurden. Bis zum 20. Januar war auch hier kein Erfolg eingetreten.

Dagegen waren am 20. Januar auf drei von 7 Blättern, die ich am 8. Januar an verwundeten Stellen mit frisch gewonnenen Sporen belegt hatte, die charakteristischen braunen Flecke, einige Tage später auch Sporen vorhanden.

Aus den vorstehenden Versuchen geht hervor, daß Phyllosticta hedericola und Vermicularia trichella nicht im stande sind, ältere unverletzte Blätter des Efeus zu infizieren, daß ihre Sporen aber sehr wohl an Wundstellen der Blätter eindringen und Blattfleckenkrankheiten verursachen können. Phyllosticta hederacea vermag auch das nicht.

Um die Empfänglichkeit gesunder jüngerer Blätter nachzuweisen, mußte ich das Frühjahr abwarten. Begonnen wurden die Versuche mit Vermicularia, da die überwinterten Blätter mit den Phyllosticta-Arten zu trocken waren und erst feucht gelegt werden mußten. Die Uebertragung der Sporen geschah auf dieselbe Weise, wie oben ange-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geben wurde; als Versuchsobjekte dienten ausschließlich junge, unverletzte Blätter, die an kurzen Zweigen in feuchten Schalen gehalten wurden.

1) Sporen von Vermicularia trichella wurden am 16. Mai auf die unverletzten jungen Blätter von 5 Zweigen gebracht, die in je eine feucht gehaltene Petri-Schale gelegt wurden. In Schale 1, 2, 3 kamen die Sporen auf die Oberseite, in 4 und 5 auf die Unterseite der Blätter.

21. Mai. In Schale 4 haben 2 Blätter schwarzbraune Stellen.

22. Mai. Schale 1: Erfolg 0, Schale 2: 2 Blätter, 3: das jüngste Blatt, 4: 5 Blätter, 5: 1 Blatt mit schwarzem Fleck.

23. Mai. Schale 1: 0; 2: Alle 3 Blätter mit Flecken, 1 davon schon mit Fruchtkörpern und reifen Sporen; 3: das jüngste Blatt mit Fleck; 4: 5 Blätter mit Flecken, 2 davon mit Fruchtkörpern und Sporen; 5: 1 Blatt mit Fleck.

In 8 Tagen waren also von 18 Blättern 10 krank geworden, in 3 Fällen hatten sich schon Sporen gebildet.

2) Am 23. Mai wurde Sporenmaterial von Phyllosticta hedericola auf 13 junge, unverletzte Blätter gebracht, die wieder an kurzen Zweigen in 3 Petri-Schalen untergebracht wurden.

Am 27. Mai in Schale 2 auf 1 Blatt ein schwarzer Punkt.

28. Mai in jeder Schale 1 Blatt mit schwarzem kleinen Fleck.

30. Mai. Der Fleck in Schale 3 wächst Vermicularia-artig!

31. Mai. Schale 1: 2 Flecke; Schale 2: 1 Fleck; Schale 3: Der Fleck macht allerdings einen an die Vermicularia-Erkrankung erinnernden Eindruck, in den jetzt vorhandenen Pykniden sind aber Sporen von Phyllosticta enthalten. Die unregelmäßige Bildung der Flecke (auch in Schale 1) ist wohl der sehr feuchten Luft zuzuschreiben, in der die Blätter sich dauernd befanden.

2. Juli. Auf 5 Blättern sind Flecke vorhanden. Die an zwei Stellen gebildeten Pykniden enthalten Sporen von Phyllosticta.

3) Sporen von Phyllosticta hederacea wurden gleichfalls am 23. Mai auf 10 Blätter gebracht, die in 2 größeren Schalen feucht gehalten wurden. Bis zum 2. Juni war nirgends Erfolg eingetreten.

Die Resultate der sämtlichen Infektionen sind in der folgenden Tabelle noch einmal übersichtlich zusammengestellt.

A. Verwundete alte Blätter.

Sporenmaterial	Erster Erfolg	Letzte Revision	Zahl der Infektionsstellen	Erfolg im ganzen	Prozent
Phyllost. hedericola, frisch	Nach 9 Tagen	Nach 28 Tgn.	8	4	50
Ph. hedericola, aus den vorigen Kulturen	—	„ 44 „	8	—	0
Ph. hederacea, frisch	—	„ 38 „	8	—	0
Vermic. trichella, frisch	Nach 6 Tagen	„ 21 „	12	10	$83^1/_3$
Vermic. trichella, aus den vorigen Kulturen	?	„ 13 „	7	3	$42^6/_7$
B. Gesunde junge Blätter.					
Ph. hedericola	Nach 5 Tagen	Nach 11 Tgn.	13	5	$38^6/_{13}$
Ph. hederacea	—	„ 11 „	10	—	—
Verm. trichella	Nach 6 Tagen	„ 8 „	18	10	$55^5/_9$

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

H. Diedicke gez. Verlag von **Gustav Fischer** in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Uebersicht zeigt, daß die Blattfleckenkrankheit des Efeus (bei Erfurt) hervorgerufen wird durch Pyllosticta hedericola Dur. et Mont. und durch Vermicularia trichella Fr. Die Infektion kann im Frühjahr an gesunden Blättern erfolgen, an alten Blättern dagegen können beide Pilze nur an Wundstellen eine Erkrankung hervorrufen. Phyllosticta hederacea (Arc.) ist kein Parasit, sondern lebt saprophytisch in dem durch die beiden anderen Pilze getöteten Gewebe; sie ist also von Ph. hedericola verschieden und als besondere Art festzuhalten.

Die jungen Blätter des Efeus sind schon so spröde, daß bei der geringsten Biegung oder bei einem geringen Stoß oder Druck schon Risse in der Epidermis entstehen. Solchen Verhältnissen aber ist gerade der auf Gräbern und zur Begrenzung von Beeten im Garten gepflanzte Efeu, bei dem die Blätter meist langgestielt in die Höhe wachsen, bei jedem stärkeren Wind und jeder Berührung durch die „bessernde" Hand des Menschen ausgesetzt, und ich glaube, daß bei der Verbreitung der Krankheit gerade die Wundinfektion die größere Rolle spielt oder mindestens der Infektion junger Blätter gleich kommt.

Die höchsten Prozentzahlen in der Tabelle zeigt Vermicularia trichella; dieser Pilz befällt die Blätter am leichtesten und zugleich am schnellsten, auch die Entwickelung der Flecke selbst und die Bildung von Fruchtgehäusen und Sporen geht bedeutend schneller vor sich, ferner ist die lokale Ausdehnung der Flecke auf den Blättern größer, und endlich sind die frisch entstandenen Sporen im stande, sogleich wieder neue Infektionen zu verursachen — kurz: Vermicularia ist von den beiden Parasiten der weitaus gefährlichere.

Wie weit die Schädigung der Blätter gehen kann, geht z. B. daraus hervor, daß mir Fräulein Frankenhäuser von der Efeuumfassung ihres Gartens (etwa 18 m lang) 465 kranke Blätter zur Ueberwinterung brachte. Durch das Abschneiden der sämtlichen kranken Blätter sollte der Versuch gemacht werden, das Auftreten der Krankheit im nächsten Frühjahr zu verhindern. Leider sind inzwischen durch den starken Frost des vergangenen Winters wieder sehr viele Blätter zerstört werden, so daß die Einfassung jetzt wieder denselben Anblick gewährt wie im vorigen Herbste.

Auch in den städtischen Anlagen wollte Herr Gartendirektor Linne im Frühling an den Efeueinfassungen einiger Beete die kranken Blätter entfernen lassen; durch den Frost waren die Pflanzen so sehr beschädigt, daß er sich genötigt sah, sämtliche Blätter abschneiden zu lassen. Der Erfolg dieser Radikalkur muß sich erst im Laufe des Jahres zeigen, und ich werde bei Gelegenheit darüber berichten.

Ebenso habe ich mir die Bearbeitung einer weiteren Efeublattkrankheit, die ich auf dem Friedhof in Weimar bemerkte und die durch eine Septoria verursacht wird, für später vorgenommen.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Ein Blatt mit dem großen braunberandeten Fleck von Phyllosticta hedericola Dur. et Mont., in den der graue Fleck der Ph. hederacea (Arc.) eingelagert ist.

Fig. 2. Sporen von Ph. hedericola. Vergr. 625.

Fig. 3. Sporen von Ph. hederacea. Vergr. 625.

Fig. 4 und 5. Blätter mit Vermicularia trichella. In Fig. 4 ist deutlich zu sehen, wie sich der Pilz von den beiden Infektionsstellen aus über das Blatt verbreitet hat. Fig. 4 zeigt ein frisch gepflücktes, nicht kultiviertes Exemplar.

Fig. 6. Ein Stück des Fruchtgehäuses von Vermicularia trichella Fr. Vergr. 370.

Fig. 7. Sporen von Vermicularia trichella. Vergr. 625.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Wirkung einiger Gifte auf Aspergillus niger.

Von **W. Wächter.**

Die vorliegenden Untersuchungen verdanken ihre Entstehung der Frage, ob es möglich ist, die Wirkung eines Giftes durch ein anderes aufzuheben oder zu beeinflussen. — Bekanntlich spielen in der Tiertoxikologie die Antagonisten und Antidota von jeher eine große Rolle, schon aus praktischen Gründen. Man unterscheidet chemische und dynamische (physiologische) Gegengifte: Die chemischen Gegengifte „sollen die noch im Verdauungstraktus befindlichen Gifte in eine unlösliche, also unresorbierbare oder in eine unschädliche Verbindungsform überführen", und die physiologischen „sollen an denselben Organen, wie die vorausgenommene Giftsubstanz angreifend, die entgegengesetzte Wirkung (Lähmung — Erregung) hervorbringen, so daß die beiden Aktionen sich genau aufheben" [1]). Die physiologischen Antagonisten kann man nun wieder einteilen in wahre und falsche Antagonisten, je nachdem, ob beide Stoffe „die erkennbare Funktionierung eines Organs um Gleiches nach entgegengesetzten Seiten verschieben (Beschleunigung — Verlangsamung des Herzschlages, Erweiterung — Verengerung der Pupille)", oder ob „beide Antagonisten an verschiedenen Angriffspunkten mit ihrer Wirkung einsetzen (wenn also z. B. eine zentrale Erregung durch ein peripher angreifendes, lähmendes Mittel aufgehoben wird" [Kunkel l. c. p. 16]). — Das hier kurz skizzierte Einteilungsprinzip läßt sich auf Pflanzen und niedere Tiere natürlich nur bedingt anwenden; jedenfalls kann man auch hier chemische (extracellulär wirkende) und physiologische Antagonisten unterscheiden, wobei zu berücksichtigen ist, daß vielfache Uebergänge zwischen beiden Gruppen möglich sind.

Will man das Verhalten zweier Körper, die man auf eine Schimmelpilzkultur einwirken läßt, studieren, so wird man zunächst feststellen müssen, ob und wie diese beiden Stoffe aufeinander und auf das Nährsubstrat wirken; und ferner wird man zu berücksichtigen haben, welche Veränderung Gifte und Nährlösung durch die Ausscheidungsprodukte des Pilzes erleiden. Erst wenn wir über diese extracellulären Vorgänge im klaren sind, können wir ein Urteil über die intracellular verlaufenden Reaktionen zu gewinnen suchen. Wie schwierig es oft ist, über die Vorgänge, die sich in dem Nährsubstrat abspielen, Klarheit zu gewinnen, geht aus den folgenden Untersuchungen hervor. Man kann diesen Schwierigkeiten zum Teil aus dem Wege gehen, wenn man ausschließlich mit wässerigen Lösungen der Gifte arbeitet, wie das vielfach geschehen ist, um die letale Dosis eines Giftes zu ermitteln. Will man aber den Einfluß eines oder mehrerer Gifte auf das Gesamtwachstum oder auf Partialfunktionen studieren, ist man genötigt, normale Lebensbedingungen zu schaffen, und da treten dann die eben erwähnten, durch die Nährlösung bedingten Komplikationen ein. — Es wird ferner nicht gleichgültig für die Beurteilung der Giftwirkung sein, ob man die auf ihre Wirkung zu untersuchenden Körper gleichzeitig oder nacheinander der Nährlösung zusetzt. Im übrigen sind bei der Beurteilung der Wirkung

1) Kunkel, Handbuch der Toxikologie. 1901. p. 14.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zweier Gifte natürlich dieselben Gesichtspunkte maßgebend, wie bei Zusatz eines einzelnen Giftes [1]).

Meine Untersuchungen beschränken sich lediglich darauf, die Wirkung zweier gleichzeitig der flüssigen Nährlösung zugesetzten Stoffe auf Wachstum und Konidienbildung des Aspergillus niger zu prüfen; dabei wurde die ursprüngliche Fragestellung insofern etwas erweitert, als nicht ausschließlich zwei Gifte zur Anwendung kamen, sondern auch versucht wurde, die Wirkung eines Giftes durch einen indifferenten Körper zu beeinflussen. Wirkliche antagonistische Wirkungen aufzufinden, war von vornherein kaum zu erwarten, da selbst die toxikologische Literatur nur Muscarin und Atropin als wahre Antagonisten im Sinne der Kunkelschen Definition kennt. — Da der Aspergillus noch auf einer 5-proz. Atropinlösung wuchs, so wurde wegen des hohen Preises des Muscarins auf ein Arbeiten mit stärkeren Konzentrationen verzichtet. Maßgebend für die Auswahl der zu untersuchenden Körper waren zunächst die Angaben Meissners [1]) und Pulst [2]), die für eine Anzahl von Giften diejenigen Konzentrationen festgestellt haben, welche noch ein Wachstum des Aspergillus niger zulassen. Es wurde darum auch für die Kulturen die von Meissner angegebene Nährlösung, die mit der Pulstschen im wesentlichen übereinstimmt, angewandt: Lösung I. 8 Proz. Rohrzucker, 5 Proz. Pepton in destilliertem Wasser gelöst. Lösung II. 0,5 Proz. Ammonnitrat, 0,25 Proz. Monokaliumphosphat, 0,125 Proz. Magnesiumsulfat, Spuren von Eisenchlorid, ebenfalls in destilliertem Wasser gelöst. Vor dem Gebrauch wurden die beiden Lösungen im Verhältnis von 760:240 gemischt und von dieser Mischung je 20 ccm in Erlenmeyer-Kölbchen von ca. 100 ccm Inhalt zur Kultur gebracht.

Selbstverständlich wurde mit sterilen Lösungen und Reinkulturen gearbeitet; das Impfmaterial wurde in reichlicher Menge — eine Platinöse voll — der Nährlösung zugesetzt, und als Maß für die Wirkung auf das Wachstum wurde im allgemeinen die sichtbare Keimung der Konidien, die Deckenbildung und Sporenbildung registriert; wo es sich der größeren Anschaulichkeit wegen empfahl, wurden Bezeichnungen, wie Inseln, Insel bis Decke u. s. w. eingeschaltet.

Alles Nähere ergibt sich aus den Tabellen und diesen beigefügten Erklärungen.

1. Die Giftwirkung des Chininchlorhydrates und der Salzsäure.

Ueber die Giftwirkung des Chinins finden sich zahlreiche Angaben in der Literatur, die sich jedoch zum Teil widersprechen. So soll nach Manassein [3]) in einer 10-proz. Saccharoselösung, welcher 0,25 Proz. salzsaures Chinin zugesetzt waren, Penicillium nicht mehr keimen; ebenso gelang es auch Schwartz [4]) nicht, Penicillium in einer

1) Vergl. Pfeffer, Physiologie. II. p. 332 ff.

2) Meissner, Curt, Akkommodationsfähigkeit einiger Schimmelpilze. Leipziger Dissert. 1902.

3) Pulst, Die Widerstandsfähigkeit der Schimmelpilze gegen Metallgifte. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXVII. 1902.)

4) Zitiert v. Loew, System der Giftwirkungen. p. 89.

5) Wirkungen von Alkaloiden auf Pflanzen. Erlanger Dissert. 1897, zitiert bei Meissner, l. c. p. 16.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

0,25-proz. Lösung von Chinin. hydrochl. zu kultivieren, während Meissner[1]) angibt, daß der Pilz bei einer Konzentration von 0,5 Proz. fruktifizierte und noch in einer 1-proz. Chininlösung zur Entwickelung kam. — Aspergillus niger wächst nach Meissner (l. c. p. 13 u. 14) noch auf einer 5-proz. Lösung salzsauren Chinins und bildet eine reichlich fruktifizierende Decke auf einer 1,5-proz. Lösung; das Chininsalz ist also nach Meissner für diesen Pilz ein sehr schwaches Gift. — Wie bereits bemerkt wurde, benutzte ich für meine Versuche die Meissnersche Nährlösung, und außerdem arbeitete ich mit einem Aspergillus, der aus dem Leipziger Institut stammte. Ich gelangte indessen zu Resultaten, die von denen Meissners weit abweichen.

Tabelle I.

Temperatur 30° C. Versuchsdauer 14 Tage. Schwaches diffuses Licht. Chinin vor der Sterilisation zugesetzt.

Chinin 1,5 Proz.*	K	I	D	C**	Bemerkungen
Nach Tagen	—	8	—	9	
„ „	—	10	—	11	
„ „	—	7	—	7	
„ „	—	7	—	7	
„ „	—	11	—	14	
„ „	—	0	—	0	Nach 14 Tagen überhaupt noch keine Entwickelung
„ „	—	7	—	8	Durchschnittlich
„ „	2	—	3	4	Nach Meissner

* Proz. bedeutet hier, wie in allen Fällen, daß zu 100 ccm Nährlösung n Gewichtsteile zugesetzt sind.

** K = sichtbare Keimung. I = Inseln bis zur Größe von ca. 2 ccm. D = Decke, die ganze Oberfläche bedeckend oder wenigstens nahezu. C = Konidien.

Nach Meissner entwickelt sich also das Mycel nicht nur 4 Tage früher, sondern bildet auch eine Decke, während in meinen Kulturen nur spärliche Inseln wuchsen. — Wesentlich anders gestaltet sich die Entwickelung, wenn die das Chinin enthaltende Nährlösung schwach angesäuert wird; in diesem Falle war schon am 2. Tage der Beginn einer Mycelentwickelung zu erkennen, und am 3. Tage zeigten sich Inseln mit Konidienentwickelung. Bei Zusatz von etwas mehr Säure (1 Tropfen der 25-proz. HCl auf 20 ccm Nährlösung) kann man schon am 2. Tage nach der Aussaat eine vollständige Myceldecke und reichliche Konidienbildung beobachten. — Offenbar ist also Meissners Nährlösung sauer gewesen, was mir übrigens auch schon daraus hervorzugehen scheint, daß er bis zu 5 Proz. salzsaures Chinin lösen konnte. Dieses löst sich in Wasser aber nur im Verhältnis 1 : 34, und in meiner neutral reagierenden Nährlösung ließen sich 4- und 5-proz. Lösungen nur unter Säurezusatz herstellen.

Um die Giftwirkung der Salzsäure kennen zu lernen, wurden einige Versuche angestellt, deren Resultate folgender Tabelle zu entnehmen sind.

(Siehe Tabelle II p. 179.)

Eine 0,5-proz. Lösung der Salzsäure (25 Proz.) wirkt also schon ziemlich giftig; eine 0,75-proz. Lösung läßt ein Wachstum nicht zu stande kommen, und in einer 1-proz. HCl-Lösung keimen die Sporen selbst nicht nach 22 Tagen.

Ich lasse jetzt eine Anzahl Versuche folgen, die zeigen sollen, daß

1) l. c. p. 16.

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle II.

Temperatur 23—33° C. Versuchsdauer 22 Tage, je 2 Parallelversuche. Diffuses Tageslicht. HCl nach der Sterilisation zugesetzt.

25-proz. HCl, 1,124 spez. Gewicht		K	I	D	C	Bemerkungen
0,25 Proz. = 1 Tropfen: 20 ccm	n. Tagen	2	3	5*	3**	* Decke nicht ganz geschlossen ** Konidien nicht sehr reichlich
0,5 Proz.	„ „	4	5	16*	—	* Decke nicht geschlossen
0,75 Proz.	„ „	10	—	—	—	
1,0 Proz.	„ „	—	—	—	—	
Normale Nährlösung	„ „	1	2	5*	2	* Die ganze Decke ist vollständig schwarz

die Salzsäure in Konzentrationen, die für sich allein ohne Frage giftig wirken, mit salzsaurem Chinin zusammen der Nährlösung zugesetzt, ihre giftigen Eigenschaften verliert.

Tabelle III.

Temperatur 19—33° C. Versuchsdauer 15 Tage, je 2 Parallelversuche. Diffuses Tageslicht. Chinin vor der Sterilisation, HCl nachher zugesetzt.

		K	I	D	C	Bemerkungen
Chinin. hydr. 1,5 Proz. + HCl 0,25 Proz.	n. Tagen	2	3	11*	5	* Decke schwarz von Konidien
Chinin. hydr. 1,5 Proz. + HCl 0,5 Proz.	„ „	2	3	7*	5	* Am 8. Tage schwarz
Chinin. hydr. 1,5 Proz. + HCl 0,75 Proz.	„ „	2	3	7	5	Bis zum Schluß des Versuches nur wenig Konidien
Chinin. hydr. 1,5 Proz. + HCl 1,0 Proz.	„ „	5	13	—	—	
Normale Nährlösung	„ „	2	3	5*	5	* Am 8. Tage Decke schwarz

Die Kulturen wurden in den ersten 10 Tagen bei Zimmertemperatur (ca. 19—21° C) gehalten, also bei einer Temperatur, die unter dem Optimum für Wachstum und Sporenbildung liegt. Um so auffälliger ist daher die Wirkung, da erfahrungsgemäß bei optimaler Temperatur (ca. 30—32° C) Decken- und Sporenbildung wenigstens einen Tag früher beginnen. — Die Versuche zeigen, daß selbst eine 1-proz. HCl-Lösung der Chininlösung zugesetzt, noch Wachstum zuläßt; außerdem scheint eine 0,5-proz. HCl-Lösung schnellere Entwickelung des Pilzes zu bedingen als eine 0,25-proz. Lösung.

Wie verhalten sich nun konzentriertere Chininlösungen unter Salzsäurezusatz?

(Siehe Tabelle IV p. 180.)

Zum Verständnis dieser Tabelle muß bemerkt werden, daß die Kulturen ebenfalls während der ersten 11 Tage bei Zimmertemperatur und vom 12. Tage an zwischen 28 und 33° C gehalten wurden. Bei der Zimmertemperatur kamen die ausgesäten Konidien in den nur Chinin enthaltenden Nährlösungen überhaupt nicht zur Entwickelung, selbst nicht in einer 1,5-proz. Lösung. In dieser wie in der 2-proz. Lösung zeigte sich aber Entwickelung des Mycels und Konidienbildung, wenn sie 0,25-proz. Salzsäure enthielt. Nach Versetzen der Kulturen an den wärmeren Ort blieb die Lage bis zum 17. Tage unverändert, dann wurden den Lösungen mit 4 und 5 Proz. Chinin + HCl weitere zwei Tropfen HCl

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.
Temperatur 19—33° C. Versuchsdauer 24 Tage, je 2 Parallelversuche. Diffuses Tageslicht. Chinin vor der Sterilisation zugesetzt, HCl nachher.

		K	I	D	C	Bemerkungen
Chinin. hydr. 1,5 Proz.	n. Tagen	23	24	—	24	
Chinin. hydr. 1,5 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	3	4	11*	8	* Am 13. Tage Decke schwarz
Chinin. hydr. 2,0 Proz.	„ „	—	—	—	—	
Chinin. hydr. 2,0 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	7	8	13*	11	* Decke nicht geschlossen, schwarz. Bildung neuer submerser Inseln
Chinin. hydr. 3,0 Proz.	„ „	—	—	—	—	
Chinin. hydr. 3,0 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	19	20*	—	20	* Eine etwa 1 qcm große Insel, schwarz von Sporen
Chinin. hydr. 4,0 Proz.		löst sich ohne Säurezusatz nicht				
Chinin. hydr. 4,0 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	18	19	22*	19	* Decke nicht geschlossen, schwarz von Sporen
Chinin. hydr. 5,0 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	18	19	22*	19	do.
Normale Nährlösung	„ „	2	3	5*	5	* Am 8. Tage Decke schwarz

zugesetzt, so daß diese Lösungen nunmehr 0,75 Proz. HCl (1,124 spez. Gew.) enthielten. Gleichzeitig wurden beiden Kulturen, sowie der 3-proz. Chininsalzsäurelösung einige neue Konidien zugesetzt und schon am 2. resp. 3. Tage darauf (dem 18. resp. 19. Tage nach der ersten Aussaat) begann sich der Aspergillus zu entwickeln.

Da auch in der 3-proz. Chininlösung nach der Neuimpfung plötzliches Wachstum eintrat, obwohl dieser Kultur keine weitere Salzsäure zugesetzt wurde, so könnte man einwenden, daß nicht der erneute Salzsäurezusatz und die höhere Temperatur das Wachstum verursachten, sondern daß die Ursache der Entwickelung die Neuimpfung war, ein Umstand, der natürlich zur Voraussetzung hätte, daß das erste Impfmaterial seine Keimfähigkeit verloren hätte. — Um also die Frage zu entscheiden, ob eine stärkere Chininkonzentration mehr Salzsäure verlangt, als zur Lösung nötig ist, wenn Wachstum und Konidienbildung gefördert werden soll, waren einige neue Versuche nötig, und zwar bei optimaler Temperatur.

(Siehe Tabelle V p. 181.)

Wir ersehen aus dieser Tabelle, daß die Giftwirkung des Chininchlorhydrats lediglich von der Menge der Salzsäure abhängt, die der Nährlösung zugefügt wird; und zwar gehört eine ganz bestimmte Menge Salzsäure dazu, wenn das Chinin unwirksam bleiben soll. Das günstigste Verhältnis war für eine 0,5-proz. Chininlösung ca. 0,5 Proz. HCl (vergl. Tabelle III), für eine 3-proz. Lösung ca. 1 Proz. HCl (vergl. Tabelle V) und für eine 5-proz. Chininlösung ca. 1,5 Proz. HCl. — Rein äußerlich betrachtet, wird also die Giftigkeit des Chininsalzes durch Salzsäure aufgehoben und umgekehrt kommt die Giftwirkung der Salzsäure nicht zum Ausdruck, wenn eine genügende Menge Chinin vorhanden ist.

Da das salzsaure Chinin ein primäres Salz ist, so entsteht durch den Säurezusatz offenbar das sekundäre Salz, das, wie es scheint, völlig ungiftig für den Aspergillus ist. Daraus würde sich ohne weiteres erklären, daß man große Mengen Chinin und Salzsäure der Nährlösung zusetzen kann, wenn es im richtigen Verhältnis geschieht. Die gefundenen

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle V.

Temperatur 32° C. Versuchsdauer 6 Tage. Je 2 Parallelversuche. Schwaches diffuses Licht durch die Glastür des Thermostaten. Chinin und HCl nach der Sterilisation zugesetzt und schwach erwärmt.

		K	I	I-D*	C	Bemerkungen
Chinin. hydr. 3 Proz. + HCl 0,25 Proz.	n. Tagen	2	4	—	—	Die Lösung trübt sich etwas u. bildet einen schwachen Bodensatz
Chinin. hydr. 3 Proz. + HCl 0,5 Proz.	„ „	1	2	6	6	
Chinin. hydr. 3 Proz. + HCl 0,75 Proz.	„ „	1	2	6	6	
Chinin. hydr. 3 Proz. + HCl 1,0 Proz.	„ „	1	2	3*	3	* Am 4. Tage Decke schwarz
Chinin. hydr. 3 Proz. + HCl 1,25 Proz.	„ „	1	4	—	4*	* Konidien vereinzelt
Chinin. hydr. 5 Proz. + HCl 1,5 Proz.	„ „	1	2	4*	3	* Am 6. Tage Decke fast schwarz. Das Mycel hat sich kanariengelb gefärbt

* I-D = etwa halbe Decke; in allen Versuchen bedeckte das Mycel nicht die ganze Oberfläche, war aber im übrigen kräftig entwickelt.

Werte stimmen übrigens mit den für das sekundäre Salz durch Rechnung erlangten gut überein: um 3 g salzsaures Chinin in das sekundäre Salz überzuführen, sind 1,1 g der angewandten 25-proz. Salzsäure erforderlich. Wird weniger Salzsäure zugesetzt, so wirkt das Chinin giftig, und wird HCl im Ueberschuß zugesetzt, so übt diese die hemmende Wirkung aus.

Nach Overton[1]) kommt es bei der Wirkung der Alkaloide nicht auf die Konzentration des OH-Ions an, sondern nur auf den Grad der hydrolytischen Zerlegung in freie Base und freie Säure; denn nur die freie Base wirkt giftig, und durch den Säurezusatz wird die hydrolytische Spaltung infolge der Zurückdrängung der Dissoziation des Wassers verhindert[2]).

Komplizierter gestalten sich die Verhältnisse, wenn wir der Chininlösung mit oder ohne Salzsäure noch ein weiteres Gift zusetzen.

2. Die Wirkung des salzsauren Chinins und des Kupfersulfates.

Aspergillus niger keimt nach Pulst in einer 0,0124 Proz. $CuSO_4$ enthaltenden Nährlösung erst am 5. Tage, bildet am 8. Tage eine Decke und fruktifiziert am 14. Tage nach der Aussaat; in einer 0,025-proz. $CuSO_4$-Lösung keimte Aspergillus nicht mehr. Pulst[3]) schreibt, daß er gegebenenfalls die Metallgiftlösungen für sich sterilisierte und nach dem Erkalten mit der ebenfalls sterilisierten, entsprechend konzentrierten Nährlösung mischte, „da beim Erwärmen der Metallgift enthaltenden Nährlösungen durch chemische Einwirkungen teilweise Fällungen eintraten". Es ist also wohl anzunehmen, daß dies bei den Kupfersalzlösungen überall geschah; denn eine Nährlösung von der an-

1) Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XXII. 1897. p. 207—208.

2) Vergl. Höber, Physikalische Chemie der Zelle. 2. Aufl. 1906. p. 165—166. — Ueber die Wirkung des Chinins auf das Protoplasma vergl. unter anderem Kunkel, l. c. Bd. II. 1901. p. 743—744 u. die dort zit. Lit. Loew, l. c. p. 89; Bokorny, Vergleichende Studien über die Giftwirkung u. s. w. (Pflügers Archiv. Bd. LXIV. 1896. p. 300).

3) l. c. p. 210.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gewandten Zusammensetzung, die Kupfersulfat enthielt, verliert beim Sterilisieren ihre schwach blaue Farbe und wird gelblichgrün, auch wenn — bei schwachen Konzentrationen — kein Niederschlag entsteht. Eine Trübung entsteht immer, auch dann, wenn man die $CuSO_4$-Lösung der erkalteten Nährlösung zusetzt; auf Zusatz von wenig Salzsäure verschwindet die Trübung, mit ihr aber auch die blaue Farbe; die Flüssigkeit wird — wenigstens bei einer Konzentration von 0,03 Proz. $CuSO_4$ — völlig farblos, wirkt aber giftiger als ohne Salzsäurezusatz.

Tabelle VI.

Temperatur 32° C. Versuchsdauer 8 Tage. Je 2 Parallelversuche. $CuSO_4$ und HCl wurden der erkalteten sterilisierten Nährlösung zugesetzt.

		K	I	D	C	Bemerkungen
$CuSO_4$ 0,03 Proz.	n. Tagen	1	2*	6**	5	* Die Lösung ist fast farblos und etwas trübe. ** Decke schwarz
$CuSO_4$ 0,03 Proz. + 25-proz. HCl 0,25 Proz.	„ „	1	3	3	8*	* Wenig Konidien

Der Niederschlag oder die Trübung, die beim Vermischen der Kupfersulfatlösung mit der Nährlösung entsteht, ist auf die Gegenwart von Pepton zurückzuführen, wovon man sich leicht überzeugen kann, wenn man die einzelnen Bestandteile der Nährlösung für sich mit $CuSO_4$ zusammenbringt; nur die Peptonlösung gibt einen Niederschlag. Es entsteht ein Kupferalbuminat, dessen Zusammensetzung von derjenigen des Peptons abhängig ist; und da diese schwankend ist, wird auch die Giftwirkung des Kupfers in einer peptonhaltigen Nährlösung schwanken. — Offenbar gehen durch die Fällung wirksame Kupferionen verloren, die durch die Salzsäure z. T. wieder in Aktion treten können; da aber die blaue Farbe verschwindet, und die Kupferionen blau sind, so werden in der Lösung eine Anzahl undissoziierter $CuCl_2$-Moleküle vorhanden sein [1]). In stärkerer Konzentration würde die Lösung grün sein; da das Blau aber noch in sehr verdünnten Lösungen leichter wahrgenommen werden kann, als Grün oder Gelb, so erscheint die salzsaure Lösung farblos.

Sehr eigentümlich ist die Giftwirkung solcher $CuSO_4$ enthaltenden Nährlösungen, denen das Salz vor der Sterilisation zugesetzt wurde, im Vergleich mit denjenigen Lösungen, die erst nach der Sterilisation ihren Kupferzusatz erhielten. Da, wie erwähnt, durch die Erhitzung der Lösung mit dem $CuSO_4$ eine gelbe Trübung resp. ein Bodensatz entsteht, so sollte man eigentlich erwarten, daß eine derartige Nährlösung weniger giftig wirkt, als in der Kälte hergestellte. Wie einige Versuche zeigen, ist aber das Gegenteil der Fall.

Tabelle VII.

Temperatur 19—21° C. Versuchsdauer 11 Tage. Je 2 Parallelversuche.

		K	I	D	C	K	I	D	C	Bemerkungen
$CuSO_4$ 0,015 Proz.	n. Tagen	2	3	7*	5	3	5	6	6**	* Am 8. Tage schwarz ** „ 7. „ „
„ 0,03 „	„ „	3	4	8*	6	3	5	8*	6	* Am 10. Tage schwarz
„ 0,05 „	„ „	—	—	—	—	3	7	10*	9	* Decke nicht ganz geschlossen, schwarz
„ 0,1 „	„ „	—	—	—	—	3	8	—	8	
		$CuSO_4$ vor der Sterilisation				$CuSO_4$ nach der Sterilisation zugesetzt				

1) Vgl. W. Herz, Ueber die Lösungen. Leipzig 1903. p. 30.

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die kalt bereiteten $CuSO_4$-Nährlösungen waren schwach blau; nach der Sterilisation waren die 0,015-proz. und 0,03-proz. Lösungen gelbgefärbt und trübe, und die 0,05- und 0,1-proz. Lösungen zeigten einen gelben Bodensatz. Die blauen Lösungen änderten ihre Farbe ebenfalls nach 8 Tagen, indem sie ins Grünlichgelbe umschlugen.

Es müssen also durch die Erhitzung des Kupfersulfates mit der Nährlösung Verbindungen entstehen, die giftiger sind als das reine $CuSO_4$ resp. dessen Peptonverbindung in der kalten Lösung; da in den kaltbereiteten Lösungen die blaue Kupferfarbe ebenfalls verschwindet, so müssen auch hier Veränderungen eintreten, vielleicht dieselben wie in der Hitze, nur langsamer. — Wenn auch diese Beziehungen im einzelnen noch näherer Aufklärung bedürfen, so zeigen die Versuche zur Genüge, wie notwendig es ist, bei der Beurteilung der Wirkung eines Giftes die Nährlösung und ihre Zusammensetzung mehr zu berücksichtigen, als es meistens geschehen ist. Daß sich unter diesen Umständen die Dinge noch mehr komplizieren, wenn wir außer dem $CuSO_4$ noch Chinin der Nährlösung zusetzen, ist nicht verwunderlich. — Nicht nur $CuSO_4$ gibt mit der Nährlösung einen Niederschlag, sondern auch mit dem salzsauren Chinin, der sich aber ebenfalls in Salzsäure löst. In den mir zugänglichen und bekannten Handbüchern der Chemie habe ich über eine Reaktion von $CuSO_4$ auf Chininchlorhydrat keine Angaben gefunden; es handelt sich aber ohne Zweifel um Ausscheidung von schwefelsaurem Chinin, und zwar um das primäre Salz, da der Niederschlag sich schwer in kaltem Wasser löst. Der weiße Niederschlag ist sehr voluminös und stellt einen anfangs fast festen Brei dar, der sich aber gut auswaschen läßt. Mit dem Auswaschen wurde so lange fortgefahren, bis das Filtrat mit Ferrocyankalium keine Kupferreaktion mehr zeigte. Der in heißem Wasser gelöste Niederschlag fluoreszierte auf Zusatz von wenig H_2SO_4, gab mit $BaCl_2$ einen Niederschlag von $BaSO_4$ und keine Trübung mit $AgNO_3$.

Untersuchungen über die Wirkung des $CuSO_4$ und Chinins ergaben folgendes:

Tabelle VIII.

Temperatur 30° C. Chinin vor der Sterilisation, $CuSO_4$ und HCl nachher zugesetzt.

		K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
1. $CuSO_4$ 0,015 Proz.	n. Tagen	9	11	—	—	11	Versuchsdauer 12 Tage
Chinin. hydr. 1,5 Proz.		9	11	—	—	11	
			5	—	—	6	
2. $CuSO_4$ 0,015 Proz.	„ „	1	—	—	2	3	
Chinin. hydr. 1,5 Proz.		1	—	—	3	3	
HCl 0,25 Proz.		1	—	—	3	4	
3. Chinin. hydr. 1,5 Proz.	„ „		7	—	—	8	Durchschnittswert aus 6 Versuchen. Vergl. Tabelle I.
4. $CuSO_4$ 0,015 Proz.	„ „	1	—	—	2	3	
		1	—	—	2	3	
		1	—	—	3	4	
		5	—	—	8	14	Nach Pulst

Temperatur $19^1/_2$—$21^1/_2$° C. Versuchsdauer 13 Tage. Chinin vor, $CuSO_4$ und HCl nach der Sterilisation zugesetzt.

		K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
5. $CuSO_4$ 0,025 Proz.	n. Tagen	3	4	6	7	6	2 Parallelversuche. Am Ende des Versuches Decke halbschwarz
6. Chinin. hydr. 1,5 Proz. HCl 0,25 Proz.	„ „	3	4	8	10	7	Bedeutend weniger Konidien als vorher. 2 Parallelversuche.
7. $CuSO_4$ 0,025 Proz. Chinin. hydr. 1,5 Proz. HCl 0,25 Proz.	„ „	4	7	12	—	10	Wenig Konidien. 4 Parallelversuche

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Temperatur $19^1/_2$—$21^1/_2$° C. Versuchsdauer 13 Tage. Chinin vor, $CuSO_4$ und HCl nach der Sterilisation zugesetzt.

		K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
8. $CuSO_4$ 0,05 Proz.	n. Tagen	3	7	10	—	7	Am Ende des Versuches halbschwarz. 2 Parallelversuche
9. $CuSO_4$ 0,05 Proz. Chinin. hydr. 1,5 Proz. HCl 0,25 Proz.	„ „	4	10	—	—	10	Ganz vereinzelt Konidien. 2 Parallelversuche
10. $CuSO_4$ 0,1 Proz.	„ „	4	8	—	—	8	Der gleiche Versuch wie in Tabelle VII. Sehr wenig Konidien[1])
11. $CuSO_4$ 0,1 Proz. Chinin. hydr. 1,5 Proz. HCl 0,25 Proz.	„ „	5	10	—	—	—	2 Parallelversuche
12. Normale Nährlösung	„ „	2	—	3	4	4	Am 7. Tage Decke ganz schwarz. 2 Parallelversuche

Die Nährlösungen, die nur $CuSO_4$ und Chinin enthalten, waren blau und etwas trübe; die salzsauren Lösungen waren gelblichgrün und klar. Mit Ausnahme des zweiten Versuches sehen wir in allen übrigen, daß sich die Wirkungen summieren, d. h. daß $CuSO_4$ und Chinin zusammen giftiger wirken müssen als jeder Körper für sich allein genommen. Ob die Summationswirkungen quantitativ sind, läßt sich sehr schwer feststellen, wenn wir als Maß die Wirkung K, I, D u. s. w. anwenden. Um in dieser Beziehung einigermaßen genaue Resultate zu erzielen, würde man das Gewicht des Mycels feststellen müssen.

Daß in dem zweiten Versuch keine Giftwirkung zu bemerken ist, liegt daran, daß $CuSO_4$ und Chinin + HCl in der angewandten Konzentration auch für sich allein ungiftig sind — wenigstens bei optimaler Temperatur.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Trinkwasserdesinfektion mit Peroxyden.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des k. b. Operationskurses für Militärärzte in München. Vorstand Oberstabsarzt Prof. Dieudonné.]

Von Dr. **J. Novotný**, k. k. Regimentsarzt, Rokycan, Böhmen.

H. Much und P. H. Römer[2]) machen in ihrer Abhandlung über Verfahren zur Gewinnung einer von Tuberkelbacillen freien Milch die Bemerkung, daß Wasserstoffsuperoxyd auch für die Desinfektion des Trinkwassers sehr geeignet ist; nach ihren Versuchen zeigte sich der Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd im Verhältnisse 1:1000 vollkommen ausreichend. Nach 6 Stunden wurde die Menge bei 50° durch 1 Stunde erwärmt, nach einer weiteren halben Stunde wurde Katalase zugesetzt,

1) Die Konidien zeigten sich ganz am Rande, wo es relativ trocken war und kaum Nährlösung zur Verfügung stand.

2) Much u. Römer, Ein Verfahren zur Gewinnung einer von lebenden Tuberkelbacillen und anderen lebensfähigen Keimen freien, in ihren genuinen Eigenschaften im wesentlichen unveränderten Kuhmilch. (Beiträge zur Klinik der Tuberkulose. Bd. V. Heft 3.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die gesamte Menge in drei Teile verteilt; der eine Teil bei 2° (im Eisschrank), der andere bei 20° (im Zimmer) und ein Teil im Brutschrank bei 37—40° aufgestellt. Sämtliche Portionen aërob und anaërob geprüft, zeigten sich noch nach 9 Wochen keimfrei. Sie fanden jedoch den durch Wasserstoffsuperoxyd erzeugten Beigeschmack beim Wasser noch unangenehmer als in der Milch und glauben, daß auch bei Wasser Anwendung der Katalase als Geschmackskorrigens sehr geeignet ist. Bei der Milch fanden sie 0,1—0,2 ccm der fertigen „Hämase" als ausreichend, um 20 ccm 1-proz. H_2O_2 in 30—45 Minuten zu zersetzen. (Sie verwendeten 1 g H_2O_2 : 1 l Milch, und um diese Menge Wasserstoffsuperoxyds aus der Milch zu entfernen, war 0,5—1 ccm der Katalase notwendig.) Den von Budde[1]) angegebenen Zusatz von 0,33 Proz. H_2O_2 und gleichzeitiger Erwärmung auf 50° fanden sie etwas gering, erst der 3—4-fach stärkere Zusatz vermag die Milch zu sterilisieren.

In einer Reihe von Versuchen prüfte Küster[2]) die bakterientötende Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds; bei einem Zusatz im Verhältnisse 0,1:1000 fand er bei stark keimhaltigem Wasser binnen 24 Stunden Herabsetzung von 41400 auf 40 Keime, im sterilen Wasser aufgeschwemmte Typhus- und Cholerabacillen waren bei einem Prozentsatz von 0,125 H_2O_2 : 100 in weniger als 4 bezw. in ½ Stunde abgetötet.

F. Blatz[3]) untersuchte Natriumsuperoxyd als Desinficiens für Trinkwasser, welches im Wasser in der Weise sich umsetzt, daß sich Natriumhydroxyd (78 Teile) und Wasserstoffsuperoxyd (34 Teile) bilden; da dadurch aber die kohlensauren Salze ausfallen, außerdem das Wasser einen laugenhaften Geschmack erhält, empfiehlt er dem Wasser äquivalente Mengen von Zitronensäure zuzusetzen, etwa auf 1 g Natriumsuperoxyd 2 g $C_6H_8O_7$. Die Versuche führte er zuerst mit Mainwasser aus; im Verhältnisse 1 g Na_2O_2 (= etwa 0,5 H_2O_2): 100 Wasser + 2 g Zitronensäure war nach 10 Minuten keine Abtötung, nur eine starke Entwickelungshemmung; erst nach 24 Stunden war Abtötung eingetreten. In der Reihe von Versuchen über die Einwirkung von Na_2O_2 in 1‰ Lösung auf pathogene Bakterien hat sich ergeben, daß Na_2O_2 ein stark bakterienhaltiges Wasser, im Verhältnisse 1:1000 zugesetzt, nur bei einer 24-stündigen Einwirkung sicher keimfrei macht; bei Choleravibrionen genügte eine 3-stündige Einwirkung, bei Typusbacillen war eine 6-stündige Dauer nötig.

Bonjean[4]) machte vergleichende Versuche über die desinfizierende Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd und Calciumsuperoxyd auf Seinewasser, um festzustellen, ob H_2O_2 in statu nascendi wirksamer ist; es zeigt sich, daß 10 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung (= 0,291 g H_2O_2) das Versuchswasser nach 6 Stunden, 0,5 g CaO_2 (= 0,06 g H_2O_2) aber bereits nach 4 Stunden sterilisierten. Die Menge des beim Versuch in Lösung befindlichen H_2O_2 wurde durch Titration mit Kaliumpermanganat (1 ccm = 0,538 mg H_2O_2) nach Zusatz von Salpetersäure ermittelt. Christian[5]) nahm Nachprüfung dieser Versuche mit Spreewasser vor,

1) Budde, Eine neue Methode, die Milch zu sterilisieren. (Milchztg. 1903. No. 44.)

2) Küster, Untersuchungen über Bakterienvernichtung durch den Sauerstoff der Luft und durch Wasserstoffsuperoxyd. (Archiv f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 4.)

3) Blatz, Ueber die Wirkung des Natriumsuperoxyds als Desinficiens für Trinkwasser. (Apoth.-Ztg. 1898. p. 728.)

4) Bonjean, E., Compt. rend. de l'académie de sc. 1905. No. 1.

5) Christian, Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds in statu nascendi. (Hyg. Rundschau. 1906. No. 8. p. 409.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I. H_2O_2.

	Zeit der Beobachtung	Wassermenge	Zugesetzte Kulturmenge	Kontrollplatte	Zugesetztes Mittel	Dauer der Einwirkung: gleich n. Zusatz	5 Min.	15 Min.	1/2 St.	1 St.	2 St.	5 St.	24 St.
1)		500 ccm Leitungswasser	0,1 ccm 24-stünd. Colikultur	.	5 ccm reinen H_2O_2; 1 ccm = 7,6 mg H_2O_2	Titriert 7,3 mg	7,1 mg	7,1 mg	7,1 mg	7,1 mg	7,1 mg	6,9 mg	6,8 mg
	n. 2 Tagen	.	.	9 596	.	2050	3300	2200	85	43	—	1	—
	n. 4 Tagen	.	.	.	.	2450	3349	2400	89	54	—	1	—
	n. 6 u. 8 Tagen				Keine auffallende Zunahme mehr wahrnehmbar								
2)		500 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Colikultur	.	5 ccm H_2O_2 + 0,2:100 $KMnO_4$ (= 1 % Konzentration	.	.	.	.	.	.	.	.
	d. 3. Tag	.	.	11 706	.	18	—	—	—	23	2	—	—
	d. 6. Tag	.	.	13 143	.	18	9	11	6	25	2	—	—
	d. 8. Tag	.	.	.	.	18	9	11	6	27	2	—	—
3)		500 ccm Leitungswasser	0,1 ccm 24-stünd. Colikultur	.	15 ccm H_2O_2 (1 ccm = 22,8 mg H_2O_2)	.	.	.	.	.	.	.	.
		.	.	.	Titriert	21,0 mg	21,0 mg	20,0 mg	19,8 mg	19,8 mg	19,8 mg	19,6 mg	19,6 mg
	n. 2 Tagen	.	.	9 670	.	450	8	3	15	3	5	—	—
	n. 6 Tagen	.	.	11 105	.	456	13	5	16	verunreinigt	5	—	—
	n. 8 Tagen				Keine wesentliche Veränderung								
4)		500 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Colikultur	.	15 ccm H_2O_2 + 0,55:100, dann aber nur 0,011 g $KMnO_4$	.	.	.	.	.	.	.	.
	n. 4 Tagen	.	.	13 700	.	11 300	13 600	13 010	2000	2950	11 400	13 569	10 359
	b. z. 2. Tag				Im wesentlichen die Zahl dieselbe geblieben								

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

5)		100 ccm Leitungswasser	0,1 ccm:20 dann 0,1 ccm	.	3 ccm H_2O_2	.	.	.	.	.	.	.		.
		.	.	.	Titriert	.	.	.	19,9 mg	19,6 mg	19,6 mg	.		17,9 mg
	n. 48 St.	.	.	5 519	.	.	.	.	—	—	—	.		—
	n. 8 Tagen	..	..	6 018	.	.	.	.	—	—	—	.	.	—
6)		100 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Pyocyaneuskultur von 0,1:100	.	3 ccm H_2O_2; titriert	.	.	18,2 mg	18,2 mg	17,6 mg	19,3 mg	18,8 mg		17,7 mg
	n. 48 St.	.	.	7 326	.	.	.	—	—	—	—	—	.	—
	n. 8 Tagen	.	.	Verflüssigt	.	.	.	—	—	—	—	—	.	—
7)		500 ccm Leitungswasser	0,1 ccm von 0,1 ccm:200 Colikultur	.	0,42 cm H_2O_2 (also 1% Lsg.)	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	n. 48 St.	..	..	5 069	.	—	.	—	—	—	.	.		—
	am 8. Tage	.	.	5 172	.	—	.	—	—	—	.	.		—
8)		1 l Prager Leitungswasser	Typhuskultur 0,1:250	72 144	0,1 ccm r. H_2O_2	∞	.	.	.	∞	8 640	3 St. 7 170	5 St. 3 280	20
		desgl.	desgl.	∞	0,2 ccm r. O_2H_2	∞	.	.	.	∞	8 403	3 781	3	—
		desgl.	desgl.	∞	6,4 ccm r. H_2O_2	∞	.	.	.	∞	6 516	3 015	—	—
9)	d. 3. Tag	Abfallwasser 1000 ccm	0,1 ccm Colikultur 0,1:200	∞	0,84 H_2O_2 (= 1% Lsg.)	.	.	Titriert 0,9 mg	0,9 mg	0,7 mg	.	.		0,6 mg
						.	.	350	300	27	—	—		—
10)	n. 2 Tagen	Leitungswasser 1000 ccm	0,1 ccm Colikultur 0,1:200	∞	0,48 H_2O_2	.	.	—	.	—	—	.		—
	am 8. Tage	.	.	∞	.	.	.	—	—	—	—	.		—

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II. Na_2O_2.

	Zeit der Beobachtung	Wassermenge	Zugesetzte Kulturmenge	Zugesetztes Mittel	Kontrollplatte	Einwirkungsdauer									
						gleich nach Zusatz	5 Min.	15 Min.	$^1/_2$ St.	1 St.	2 St.	$3^1/_2$ St.	4 St.	5 St.	24 St.
1)		500 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Colikultur	5 g Na_2O_2 (1 ccm = 8,4 mg H_2O_2)	.	Titriert 6,9 mg	7,8 mg	8,1 mg	8,1 mg	7,6 mg	7,8 mg	7,8 mg	7,5 mg	7,4 mg	5,7 mg
	n. 24 St.	.	.	.	7 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	n. 3 Tagen	.	.	.	7 650	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	am 8. Tage	.	.	.	7 672	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2)		500 ccm Leitungswasser	desgl.	5 g Na_2O_2 10 g Acid. citr.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	n. 24 St.	.	.	.	8 300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	n. 3 Tagen	.	.	.	8 520	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	am 8. Tage	.	.	.	8 520	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3)		100 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Coli von 0,1 : 100	1 g Na_2O_2 (1 ccm = 8,4 mg H_2O_2	.	.	.	.	7,1 mg	6,9 mg	6,9 mg	.	.	.	6,1 mg
	n. 48 St.	.	.	.	10 085	.	.	.	—	—	—	.	.	.	—
	am 8. Tage	.	.	.	∞	.	.	.	—	—	—	—	—	.	—
4)	n. 48 St.	100 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Coli : 100, davon 0,1 ccm	1 g Na_2O_2 2 g Acid. citr.	∞	.	.	.	—	—	—	—	.	.	—
	n. 8 Tagen	.	.	.	∞	.	.	.	—	—	—	.	.	.	—
5)	n. 48 St.	1000 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Colikultur	1 g Na_2O_2 3,5 g Acid. citr.	∞	.	.	121	26	3	—	.	.	.	—
	n. 4 Tagen	.	.	.	∞	.	.	297	81	15	12	.	.	.	—
	am 8. Tage	.	.	.	∞	.	.	298	83	16	12	.	.	.	—

6)		100 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Pyocyaneus von 0,1:100	1 g Na_2O_2 titriert	.	.	.	2,8 mg	7,2 mg	6,9 mg	6,8 mg	6,7 mg	4½ St. 6,7 mg	.	6,2 mg
	n. 48 St.	.	.	.	∞ Teilw. verfl.	.	.	—	—	—	—	—	—	.	—
	am 8. Tage	.	.	.	Verflüssigt	.	.	—	—	—	—	—	—	.	—
7)	n. 48 St.	100 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Colikultur:100 dann 0,1 ccm	1 g Na_2O_2 2 g Acid. citr.	6 312	.	.	—	—	—	—	—	—	.	—
	am 8. Tage	.	.	.	∞	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
8)	n. 48 St.	500 ccm Leitungswasser	0,1 ccm Colikultur:100 dann 0,1 ccm	1 g Na_2O_2	6 023	.	.	—	—	—	—	—	.	.	—
	n. 8 Tagen	.	.	.	6 218	.	.	—	—	—	—	—	.	.	—
9)	n. 48 St.	500 ccm Leitungswasser	desgl.	1 g Na_2O_2 2 g Acid. citr.	6 232	.	.	—	—	—	—	.	.	.	—
	n. 8 Tagen	.	.	.	6 339	.	.	—	—	—	—	.	.	.	—
10)	n. 48 St.	500 ccm Abfallwasser	.	1 g Na_2O_2 2 g Acid. citr.	1 192	.	.	500	25	—	—	—	.	.	—
	n. 4 Tagen	.	.	.	Meist verflüssigt	.	.	Verfl.	in Verflüssig.	—	—	—	.	.	—
11)		500 ccm Abfallwasser	0,1 ccm Colikultur von 0,1:200	1 g Na_2O_2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	n. 5 Tagen	.	.	.	∞	.	.	700	143	5	—	—	.	.	—
		.	.	.	∞	.	.	Meist verflüss.	in Verflüssig.	14	—	—	.	.	—
12)	n. 48 St.	500 ccm Abfallwasser	0,1 ccm Pyocyneus von 0,1:200	1 g Na_2O_2	Schrägagar pritiv	.	.	Auf Schrägagar positiv	Auf Schrägagar positiv	Negat.	.	.	.	.	—

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dessen Keimgehalt zwischen 35—60000 schwankt; die Wasserstoffsuperoxydlösung enthielt 2,76 Proz. H_2O_2; das Calciumsuperoxydpräparat mit 48,9 Proz. CaO_2, titriert. Nach Zusatz von 10 ccm der H_2O_2-Lösung auf 1 l und 0,5 g CaO_2 auf 1 l trat in 4—6 Stunden eine Sterilisierung des Spreewassers ein, er betont jedoch, daß die Resultate nicht immer vollkommen gleich waren. Nach Verwendung von weniger als 2 ccm H_2O_2-Lösung pro Liter war eine desinfizierende Wirkung kaum wahrnehmbar; von 2 ccm ansteigend, trat sie deutlicher vor, bis bei 10 ccm in der Regel nach 4 Stunden die erfolgte Sterilisierung festzustellen war. Bei Anwendung von 0,5 g CaO_2 fand sich dieser Effekt erst nach 6 Stunden, während 1 g CaO_2 pro Liter zugesetzt, das Spreewasser nach 5 Stunden keimfrei machte. Nach dem Ausfall seiner Versuche ist Christian gegenüber Bonjean der Ansicht, daß „bei Anwendung des CaO_2 als Desinfektionsmittel der Hauptanteil dem Kalk und nicht dem entstehenden H_2O_2 zukommt, kann also die Hypothese der stärkeren Wirkung des H_2O_2 in statu nascendi nicht als glaubhaft ansehen. Daß die Hypothese unrichtig sei, will er durch seine Versuche nicht als endgültig festgestellt haben, dazu wird man einen Körper verwenden müssen, der H_2O_2 abzuspalten vermag ohne daß ein so stark desinfizierendes Nebenprodukt wie Kalk entsteht.“

Auf Veranlassung von Oberstabsarzt Prof. Dieudonné machte ich einige vergleichende Versuche über die Wirkung des H_2O_2 und des Na_2O_2 auf verschiedene Bakterien, deren Resultat in den Tabellen zusammengestellt ist.

Die Tabelle I zeigt den Desinfektionseffekt, der mit reinem Perhydrol (Merck) im Verhältnis einer 1- und 3-proz. (Volumprozent) Lösung angestellten Versuche, aber auch den im 1-proz. Verhältnis dem Gehalte an H_2O_2 nach (7, 9, 10). Bei dem Versuche 2 wurde zu dem 1-proz. H_2O_2-Zusatz noch so viel Kaliumpermanganatlösung zugesetzt, als es im stande ist, alles in der Lösung enthaltene H_2O_2 freizumachen (hier 0,2:100). Nach dem Zusatz von Kaliumpermanganatlösung bildete sich ein reichlicher rasch aufsteigender Schaum, die Lösung blieb dunkelblau verfärbt. Im Versuche 4 erwies sich die entsprechende Menge an Kaliumpermanganatlösung (0,55:100) als zu konzentriert und wurden nur 2 ccm (= 0,011 $KMnO_4$) der vorbereiteten Lösung zugesetzt. Auch dieser Zusatz wurde von einer heftigen, großblasigen Schaumbildung begleitet.

Die Versuche 7, 9 und 10 zeigen den Unterschied, wenn ein keimarmes (Münchner Leitungswasser) und ein stark verunreinigtes an organischen Substanzen reiches Wasser (Abfallwasser) zur Desinfektion gelangen soll. Als Versuchsreihe 8 werden hier erwähnt die Versuche, die vor 2 Jahren in dem hygienischen Institut (Vorstand Professor Kabrhel) der Universität in Prag ausgeführt wurden; die Keimzahl war sehr groß, das angewendete Quantum des reinen Perhydrol (Merck) etwas zu gering. Zu 250 ccm abgekochten Leitungswassers wurde 1 ccm frischer Typhuskultur zugesetzt, dann in je 1 l Prager Leitungswasser (dessen Keimzahl zwischen 60—100 in 0,1 ccm schwankt) 0,5 ccm der Typhusaufschwemmung zugesetzt, davon dann 0,1 ccm bei Gelatineplatten verwendet. Titration des Untersuchungswassers an H_2O_2 wurde nicht vorgenommen, die Platten jedoch auf Anwesenheit des freien O untersucht; die Probe fiel in allen Fällen nach 1 Stunde negativ aus, im Untersuchungswasser trat sie stets prompt auf, wiewohl auch nur 0,1 ccm des Wassers genommen und beiläufig so viel Leitungswasser noch zugesetzt, als das Gelatinequantum der Platte ausmachte. Zur Kontrolle dieser

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erscheinung wurde ein Gelatinereagenzglas etwas erwärmt, bis die Gelatine eben verflüssigt war, dann 0,1 ccm aus der Literflasche mit 0,4 ccm H_2O_2 zugefügt; dieses zeigte kaum eine Spur des freien O, so daß damals angenommen wurde, die Gelatine nach dem Zusatz des H_2O_2 dieses sofort oder baldigst verbraucht, zersetzt oder physikalisch bindet.

Günstigere Resultate zeigt das Na_2O_2; es ist ein feines, leicht gelbliches Pulver, welches mehr als 14mal so reich an O ist als flüssiges H_2O_2 10 Volumen; es soll sich in jedem Klima (in den Blechbüchsen) auf unbegrenzte Zeit halten; ist weder selbstentzündlich noch brennbar, aber mit Wasser kann es verschiedene organische Substanzen (Stroh, Heu, Holz etc.) zur Entzündung bringen; in Wasser aufgelöst, bildet es H_2O_2, das seinen Wasserstoff abgibt, und Natriumhydrat (Aetznatron)[1]).

In der Tabelle II nebeneinander verglichen, illustrieren die Versuche 5, 6, 8, 10, 11 und 12 die Wirksamkeit des Mittels am deutlichsten; aber in der Konzentration 1:100 ist die Reaktion stark alkalisch, der Geschmack sehr laugig, metallisch, im Halse stark kratzend, so daß es als Trinkwasser nicht verwendbar wäre; im Verhältnisse 1:500 ist die Wirkung nicht immer sicher, der Geschmach jedoch schon erträglicher, und es läßt sich durch Zusatz von $C_6H_8O_7$ ziemlich gut korrigieren.

Tabelle III.

	Wasser-menge	Zugesetzte Kulturmenge der Cholera-kultur	Zugesetztes Mittel	Kontroll-platte	Dauer der Ein-wirkung	Zahl der ang. Kolben	Zahl der Rot-reaktion
1) auch nach 8 Tagen	500 ccm Leitungs-wasser	0,1 ccm zu 20 ccm Pep-tonwasser dann 0,1 ccm	5 g Na_2O_2	21 150	10 Min. 30 Min. .	2 2 1 Kontrolle	⊖ ⊖ +
2) auch nach 8 Tagen	500 ccm Leitungs-wasser	desgl.	5 g Na_2O_2 10 g Acid. citr.	23 502	10 Min. 30 Min. .	2 2 1 Kontrolle	⊖ ⊖ +
3) auch nach 8 Tagen	500 ccm Abfall-wasser	0,1 ccm Kul-tur zu 100 gek. Abfallwasser, dann 0,1 ccm	5 g Na_2O_2	21 652	15 Min. 30 Min. .	2[2]) 2 1 Kontrolle	⊖ ⊖ +

Aus der Tabelle III ist die Wirkung des Na_2O_2 auf Choleravibrionen sichtbar; dabei wurde das Schüdersche Anreicherungsverfahren angewendet und nur in Kontrollkolben konnte die Cholerarotreaktion stets nachgewiesen werden. In den Kolben des Versuches 3 entstand zwar eine Trübung des Peptonwassers, aber durch weiteres Anreicherungsverfahren konnten keine Choleravibrionen nachgewiesen werden.

Bei allen Versuchen und in allen Zeitabschnitten, auch nach 24 und 48 Stunden konnte in den Untersuchungswässern das freie O stets prompt nachgewiesen werden.

Erwähnenswert ist die Beobachtung, die bei den Versuchen mit Choleravibrionen gemacht wurde; an einer frischen Choleraptonkultur, der, außer dem nötigen Quantum an Schwefelsäure, um eine

1) Das benutzte Präparat stammte aus der elektrochemischen Fabrik Frankfurt a. M.

2) In einem Kolben entstand eine diffuse Trübung; es war aber keine Cholerakultur durch weitere Anreicherungsverfahren nachweisbar.

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Rotreaktion hervorzurufen, noch eine geringe Menge Na_2O_2 zugesetzt wurde, konnte im hängenden Tropfen eine lebhafte Eigenbewegung der Vibrionen beobachtet werden; derselbe Tropfen durch 1 Stunde im Brutschrank gelassen, ließ nachher dieselbe unbehindert lebhafte Eigenbewegung wahrnehmen. Aehnliches wurde beim Pyocyaneus (Tab. II, 6) beobachtet; die Platten erwiesen sich schon nach $^1/_4$ Stunde steril, aber ein hängender Tropfen nach 1 Stunde auf 10 Minuten in den Brutschrank bei 37,0° gelegt, zeigte einzelne Bakterien wieder beweglich, während die Mehrzahl noch die Kugelform beibehielt. Möglicherweise können die Bakterien bei Anwendung eines desinfizierenden Mittels in ihrem Wachstum irgendwie gehemmt erscheinen, so daß auf der Platte ihr Wachstum nicht mehr gut vor sich geht, während sie sich in einem ihren Lebensbedingungen zusagenden Nährboden — bei Cholera der Darmtraktus — früher oder später erholen und eine Infektion hervorrufen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Art des zu desinfizierenden Wassers (reines oder stark verunreinigtes) bei der Wirkung des H_2O_2 und Na_2O_2 von großem Einfluß ist, daß das proportionelle Verhältnis zwischen der Bakterienzahl und Menge des angewandten Desinfektionsmittels eine wichtige Rolle spielt. Die keimtötende Wirkung des Na_2O_2 im Verhältnis 1:100 ist deutlich, im Verhältnis 1:500 nicht mehr unbedingt sicher. Eine auffallend starke Abnahme des H_2O_2 konnte titermäßig nicht konstatiert werden, H_2O_2 wie Na_2O_2 könnten in Lösungen 1:500 als ein sehr gutes Mundwasser gebraucht werden, als Trinkwasserdesinficiens ist Na_2O_2 seiner Billigkeit, seiner leichten Aufbewahrung wegen im Verhältnis 1:500 mit Zusatz von Zitronensäure allen übrigen vorzuziehen; der etwa vorhandene metallische Nachgeschmack läßt sich noch durch kleine Zuckermengen ziemlich gut korrigieren.

Inhalt.

Diedicke, H., Die Blattfleckenkrankheit des Efeus, p. 168.

Fuhrmann, Franz, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres, p. 117.

Huss, Harald, Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien. Bacillus esterificans Maassen und Pseudomonas Trifolii nov. spec. (Schluß), p. 149.

Issatschenko, B., Zur Erforschung des Bakterienlichtes, p. 116.

Koestler, Guido, Der Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien. (Milch), p. 128.

Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. (Forts.), p. 97.

Laubert, R., Cryptosporium minimum nov. spec. und Frostbeschädigung an Rosen, p. 163.

Novotný, J., Beiträge zur Trinkwasserdesinfektion mit Peroxyden, p. 184.

Schardinger, Franz, Zur Biochemie des Bacillus macerans, p. 161.

Wächter, W., Zur Kenntnis der Wirkung einiger Gifte auf Aspergillus niger, p. 176.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 20. Juli 1907.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 7|9.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Zytologie der Bakterien.

[Aus dem Zoologischen Institute der Universität Amsterdam.
Vorstand: Prof. Dr. C. Ph. Sluiter.]

Von **N. H. Swellengrebel**, Amsterdam.

Mit 21 Figuren.

II. Bacterium binucleatum.

I. Einleitung.

Beim Studium der neuesten Arbeiten über die Zytologie der Bakterien fällt einem sofort ein großer Widerspruch auf, welcher zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Autoren, die sich mit diesem Gegenstand befaßten, besteht. Dieses ist um so weniger erklärlich, weil alle Untersucher sich sehr schonender Methoden zur Färbung und Fixierung bedienten, so daß Kunstprodukte wohl auszuschließen sind. Ebensowenig ist Verwechselung mit Reservekörnern zu befürchten, wie Volutin etc. Betrachten wir die Ergebnisse dieser Untersuchungen etwas genauer, um uns klar darüber zu werden, worin die Widersprüche liegen.

Die böhmische Schule mit Vejdowsky (13, 14), Mencl (3, 4, 5), Rayman und Kruis (7) vertritt die Ansicht, daß es im Bakterienleibe einen echten, mit Eisenhämatoxylin darstellbaren Kern gebe. Diese von A. Meyer begründete (6) Ansicht ist neuerdings fester von Mencl (5) an Bact. Gammari begründet. Andererseits haben die Untersuchungen von Schaudinn (8, 9) an Bac. Bütschlii und B. sporonema, von Guilliermond (1, 2) an Bac. radicosus und von mir (11, 12) an Bac. maximus buccalis und Spirillum giganteum ergeben, daß die Behauptung Mencls etc. jedenfalls keine Allgemeingültigkeit beanspruchen kann, und daß es bei einem Teile der Bakterien keinen echten Kern gibt, sondern daß oft die chromatische Substanz entweder diffus im Zellleibe verteilt ist (B. Bütschlii und radicosus) oder sich in einer Spirale gelagert hat, welche die ganze Zelle durchzieht (B. maximus buccalis, Spirillum giganteum, Spirochaeta Balbianii).

Die von Schaudinn, Guilliermond und mir aufgefundenen Kernstrukturen sind keine prinzipiell verschiedenen. Man kann die letzteren als ein etwas vorgeschrittenes Stadium der ersteren auffassen. Ein größerer Unterschied besteht zwischen den Auffassungen der böhmischen Schule und den obengenannten Autoren. Es haben die verschiedenen Untersucher sich denn auch bemüht, diesen Widerspruch zu erklären. Mencl schreibt das Nichtauffinden der Kerne ungenügender Fixierung und Differenzierung zu. Dieses trifft natürlich nicht zu für Untersucher wie Schaudinn und Guilliermond. Was mich selbst anbelangt, so habe ich Mencls Anweisungen genau befolgt; es ist mir aber nie gelungen, weder bei Bac. maximus, noch bei Sp. giganteum, einen echten Kern aufzufinden. Andererseits sucht Guilliermond die Angabe Mencls und Vejdowskys dadurch zu erklären, daß er annimmt,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sie haben Querwandanlagen für Kerne angesehen. An und für sich ist dieses gar nicht unmöglich, denn die Zellmembran vieler Bakterien verhält sich färberisch oft wie Chromatin. (Sie färbt sich z. B. mit Giemsa-Lösung leuchtend rot.) Doch scheint es mir wohl etwas gewagt, zu behaupten, daß die Kerne, welche Mencl in seiner letzten Arbeit beschrieben hat, ohne weiteres als Querwandanlagen anzusehen seien.

Mit dem Studium der Mundspirochäten beschäftigt, habe ich zufälligerweise einen Bacillus aufgefunden, welcher geeignet erscheint, die Widersprüche zwischen den Annahmen der Autoren aufzuheben. Bevor ich zur Beschreibung des Bacillus übergehe, möchte ich einige kurze Angaben über die befolgte Technik voranschicken.

Technik. — Die Fixierung geschah, wie gewöhnlich, in 35-proz. Formollösung oder in absolutem Alkohol, welche gar keine Verzerrungen hervorriefen. Für die Färbung wurde, außer dem wertvollen Heidenhainschen Hämatoxylin, auch mit ausgezeichnetem Erfolge die Giemsa-Färbung verwendet. Hierzu benutzte ich die Stammlösung von Grübler, von welcher 10 Tropfen mit 10 ccm destillierten Wassers vermischt wurden. Die Färbungszeit betrug ungefähr 25 Minuten. Die Färbung ist dann meistens sehr scharf.

II. Die ruhende Zelle.

Morphologie der Zelle. — Der von mir untersuchte Bacillus wurde zuerst von Miller beschrieben (Fig. 32 in der ersten Auflage seines Buches), aber nicht mit einem Namen belegt. Ebensowenig geschah dieses, soviel ich weiß, von anderen Autoren. Da aber der Bacillus durch seinen eigentümlichen Bau besonderes Interesse beansprucht, glaube ich gut zu tun, ihm einen Namen zu geben. Der Bacillus ist immer gebogen, so daß man geneigt wäre, ihn unter die Spirillen zu bringen; da er aber unbeweglich ist, wird es wohl am besten sein, ihn vorläufig in der Gattung Bacterium einzureihen und schlage ich vor, ihn mit dem Namen Bacterium binucleatum zu belegen.

Bacterium binucleatum stellt ein kurzes, plumpes, gekrümmtes Stäbchen dar, welches an seinen Enden etwas verjüngt und abgerundet ist. Kurz nach der Querteilung hat es eine Länge von ungefähr 1,2 μ, wächst aber unter Umständen bis ungefähr 5,1 μ heran, bevor es sich von neuem teilt. Die Breite beträgt 0,6—1,2 μ.

Lebend untersucht, ergibt es sich, daß B. binucleatum keine Eigenbewegung aufweist. Die lebhafte Molekularbewegung kann bisweilen eine Eigenbewegung vortäuschen, eine genauere Untersuchung lehrt aber, daß sie in Wirklichkeit nicht besteht. Daß Bact. binucleatum ein echtes Bakterium ist, geht aus der Anwesenheit einer Zellwand hervor, weiter aus der Querteilung, welche durch Anlage einer Querwand erfolgt. Durch letztere Eigenschaft unterscheidet es sich auch von den Spirillen. Es sei noch hinzugefügt, daß Bact. binucleatum, wie übrigens alle Mundbakterien, zu den schwer zu plasmolysierenden Formen gehört. Eintrocknenlassen in einer 10-proz. NaCl-Lösung, was selbst Spirochäten zur Plasmolyse führt, ändert sie nicht merkbar. Nur Natriumkarbonat kontrahiert das Plasma etwas.

An gefärbten und fixierten Exemplaren ist der feinere Bau der Zelle leicht zu untersuchen. Man kann ruhende und sich teilende Zellen unterscheiden. Nur die ersteren finden hier Erwähnung.

Das Plasma der ruhenden Zelle ist ohne jegliche wahrnehmbare

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

feinere Struktur; Vakuolen sind nicht zu sehen. Die Zellwand färbt sich nach Heidenhain meistens undeutlich; nur die Querwände sind etwas besser zu sehen. Nach Giemsa färben sie sich oft leuchtend rot. Das Plasma färbt sich nach derselben Methode hell- oder rötlichblau.

In dem Protoplasma erblickt man zwei große Körner, welche sich viel dunkler als das umgebende Protoplasma färben und sich nach Giemsa leuchtend rot tingieren. Diese Körner haben bald eine kugelrunde, bald eine Scheibenform und einen Durchmesser, welcher meistens der Breite der Zelle gleichkommt (Fig. 17—20). Bisweilen sind sie dicht nebeneinander gelegen (Fig. 20), oft sind sie auseinandergerückt und liegen dann jede an einem Ende der Zelle (Fig. 18). Selbst bei stärkster Differenzierung kann man an diesen Körnern keinen feineren Bau beobachten. Sie entfärben sich gleichmäßig.

An vielen Zellen kann man an einem Ende ein kleines, dunkelgefärbtes Körnchen beobachten, welches anscheinend nichts anderes ist als eine Verdickung der Zellmembran. Nach Guilliermonds Untersuchungen (2) entstehen dergleichen Gebilde schon bei der Querwandbildung und verursachen die große Chromatophilie derselben (Fig. 13*k*, 14*k*).

Die oben beschriebenen, in jeder Zelle in Zweizahl vorkommenden Körner fallen jedem auf und machen den Eindruck von echten Zellkernen. Dieser Eindruck wird dadurch noch bestärkt, weil, wie ich später noch beschreiben werde, bei der Zellteilung die Körner sich ebenfalls teilen, so daß jede Tochterzelle wiederum zweikörnig wird, ein Verhalten, das nicht für die Annahme spricht, daß man es hier mit Reservestoff zu tun hätte. Zieht man aber z. B. die eigentümliche Teilung der Häufchen von Stärkekörnern in den Sporenmutterzellen von Isoëtes in Betracht, welche ganz an die eines Kernes erinnert, so mahnt dieses hier auch zur Vorsicht, und es schien denn auch angebracht, nähere Untersuchungen über die Natur der Körner anzustellen.

Mikrochemie der Körner. — Wie dieses auch bei der Untersuchung von Bac. maximus buccalis geschah, kam es darauf an, zu untersuchen, ob die Körner vielleicht aus einem, in der Bakteriologie bekannten Reserveprodukte bestanden, weiter, ob die Körner sich gewissen Reagentien gegenüber ebenso verhalten, wie das Chromatin. Da ich in meiner Arbeit über Bac. maximus buccalis (10) die verschiedenen Reaktionen genauer beschrieben habe, werde ich die Ergebnisse der mikrochemischen Untersuchungen bei B. binucleatum kurz in 3 Tabellen zusammenstellen, welche 1) die Fett- und Amyloidreaktionen, 2) die Volutin- und 3) die Chromatinreaktionen enthalten.

Die zu untersuchenden Bakterien wurden auf einem Deckgläschen ausgestrichen, an der Luft getrocknet und ohne vorherige Fixierung der Einwirkung der zu prüfenden Substanz ausgesetzt (cf. Tab. I—III).

(Siehe Tabelle I—III p. 196, 197.)

Aus diesen 3 Tabellen geht hervor, daß die Körner weder Volutin oder Fett, noch eine amyloidartige Substanz darstellen. Was die Chromatinreaktion anbelangt, so ersieht man, daß die Körner nicht alle Reaktionen geben, und man könnte deswegen geneigt sein, ihre Kernnatur anzuzweifeln, wenn es sich nicht herausstellte, daß echte Kerne, wie z. B. jene der Epithelzellen, ebensowenig diese Reaktionen geben. Die wichtigste dieser Reaktionen, die Pepsinprobe, fällt jedenfalls zu Gunsten der Kernnatur der Körner aus. Im allgemeinen kann man also wohl sagen, daß es sehr wahrscheinlich ist, daß man es hier nicht mit

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle I. Fettreaktionen.

No.	Zu prüfende Substanz	Einwirkungsdauer	Ergebnisse
1	Sudan III	6 Minuten	Die Körner bleiben ungefärbt. Die mikroskopische Untersuchung geschah, indem die Zellen in der Sudanlösung blieben.
2	Xylol	3 Stunden	Die Körner sind mit Methylenblaulösung leicht nachweisbar.
3	Absoluter Alkohol	3 Stunden	Die Körner sind mit Methylenblau nachweisbar.
4	Aether	3 Stunden	Idem.

Tabelle II. Volutin- und Amyloidreaktionen.

No.	Zu prüfende Substanz	Einwirkungsdauer	Ergebnisse
1	a) Methylenblau (1+10)	5 Minuten. (Anm.: In A. Meyers Praktikum steht angegeben, daß das Methylenblau nicht länger als 2 Minuten einwirken darf. In dieser Zeit haben die Körner sich aber noch nicht gefärbt)	Die Körner färben sich deutlich dunkler als das Protoplasma
	b) Na_2CO_3 5 %	6 Minuten	Die Körner werden nicht gelöst. Das Protoplasma wird etwas heller, so daß die Körner selbst schärfer hervortreten
2	a) Methylenblau (1+10)	5 Minuten	Wie 1
	b) H_2SO_4 1 %	momentan	Körner und Protoplasma werden sogleich entfärbt
3	a) Methylenblau (1+10)	5 Minuten	Wie 1
	b) Jodjodkalium	momentan	Die Körner werden gelbbraun gefärbt. (Die Körner sind also nicht amyloïdartiger Natur.) Protoplasma blaßgelblich
	c) Na_2CO_3 5 %	6 Minuten	Plasma fast farblos. Körner hellblau
4	a) Karbolfuchsin	5 Minuten	Das Plasma wird so intensiv gefärbt, daß die Körner meistens nicht mehr wahrnehmbar sind
	b) H_2SO_4 1 %	momentan	Alles wird gleichmäßig entfärbt
5	Kochendes Wasser	5 Minuten	Die Körner bleiben mit Methylenblau (1 + 10) darstellbar
6	H_2SO_4 5 %	10 Minuten	Nach der Behandlung bleiben die Körner mit Methylenblau (1 + 10) darstellbar

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III. Chromatinreaktionen.

No.	Zu prüfende Substanz	Einwirkungsdauer	Ergebnisse
1	Pepsin „Langebeck“ 0,1 Ac. mur. dil. 2 Aq. dest. 0,6	40 Stunden bei Zimmertemperatur	Körner nicht gelöst, Protoplasma schwer färbbar; Körner also außerordentlich deutlich. Die als Testobjekt dienenden Protoplasten der Epithelzellen sind gänzlich gelöst, nur die Kerne bleiben sichtbar
2	KOH 1 %	7 Stunden	In den meisten Zellen sind die Körner nicht mehr darstellbar. Zellen schwach färbbar. Zellmembran deutlich
3	Na_2CO_3 konzentriert	24 Stunden	Weder die Körner, noch die Kerne der Epithelzellen sind gelöst
5	HCl 4 : 3	24 Stunden	Körner nur teilweise gelöst
6	HCl 4 : 3	48 Stunden	In einem Teile der Zellen sind die Körnchen noch nachweisbar
7	NaCl 10 %	24 Stunden	Keine Lösung der Körner.

Reservestoffen, sondern mit richtigen Zellkernen zu tun hat. Diese Wahrscheinlichkeit wird fast zur Sicherheit, wenn man den eigentümlichen Teilungsmodus der Körner in Betracht zieht.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

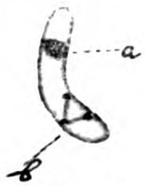


Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

Fig. 13.

Fig. 14.

Fig. 15.

Fig. 16.

Fig. 17.

Fig. 18.

Fig. 19.

Fig. 20.

Fig. 21.

Figurenerklärung.

Alle Figuren wurden mit dem Abbeschen Zeichenapparat und Apochrom.-Obj. 2 mm mit dem Kompensationsokular 18 von Zeiß (Tubuslänge 160 mm) angefertigt.

Fig. 1. Zelle mit einem in Teilung begriffenen Kern (abnormer Fall).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 2. Wie Fig. 1, nur sind hier (normalerweise) 2 Kerne vorhanden, welche sich beide in demselben Teilungsstadium befinden.

Fig. 3. Wie Fig. 1.

Fig. 4. Etwas weiteres Teilungsstadium wie Fig. 2.

Fig. 5. Bei a sieht man das erste Stadium der Teilung, in welchem die chromatische Substanz sich peripher anordnet (hohe Einstellung). Bei b ist eine Teilung im Zickzackstadium gezeichnet, wobei ein Teil der chromatischen Substanz sich in der Mitte angeordnet hat.

Fig. 6. Bei a: Stadium, welches jenem von 5a folgt. Die chromatische Substanz hat sich in eine Ecke zurückgezogen, der weniger gefärbte Teil ist das chromatische Gerüst. Fig. 6b wie Fig. 1.

Fig. 7, 7a, 7b. Hier ist die Teilung erfolgt, die zwei Teilstücke sind auseinandergerückt.

Fig. 8. Teilungsstadium, welches jenem von Fig. 7b folgt. Die Teilstücke haben sich gestreckt. Bei a fängt die chromatische Masse an, sich gleichmäßig über das ganze Stäbchen zu verteilen.

Fig. 9. Teilungsstadium, welches jenem von Fig. 8 folgt. Die chromatische Masse hat sich gleichmäßig über das Stäbchen verteilt und die Teiluug ist damit beendet. Auch die Querwand ist schon angelegt. Deutlich ist es, daß schon jetzt die beiden Tochterzellen zweikernig sind.

Fig. 10. Stadium ähnlich jenem von Fig. 8.

Fig. 11. Teilungsstadium zwischen jenen von Fig. 6a und 6b. Die chromatische Masse hat sich schon geteilt, die zwei Körnchen sind aber noch nicht auseinander gerückt. Am gegenüberliegenden Teile der achromatischen Substanz hat sich ebenfalls etwas Chromatin angehäuft.

Fig. 12. Wie Fig. 10.

Fig. 13. Verschmelzung zweier Zickzacklinien. Die eine ist auseinandergefallen, so daß die andere nur mit einem Teile der ersteren in Verbindung steht.

Fig. 14. Verbindung zweier. In dieser wie in der vorigen Figur ist mit k die Verdickung der Zellwand bezeichnet.

Fig. 15. Wie Fig. 13, nur ist hier das andere Stück der gebrochenen nicht zu sehen.

Fig. 16. Fig. 16a wie Fig. 5a. Die andere Zelle wie Fig. 1.

Fig. 17. Ruhende Zelle mit weit voneinander entfernten Kernen.

Fig. 18. Wie Fig. 17.

Fig. 19. Zelle, gerade aus einer Teilung hervorgegangen.

Fig. 20. Wie Fig. 19.

Fig. 21. Anscheinende Verbindung zweier.

III. Die sich teilende Zelle.

Zellteilung. — In seinen neuesten Arbeiten hat Guilliermond darauf hingewiesen, daß es möglich ist, Anlagen von Querwänden mit Zellkernen zu verwechseln, und er hat versucht, die Ergebnisse Mencls darauf zurückzuführen. Dieser Einwand trifft jedenfalls für die von mir aufgefundenen Körner nicht zu, denn bei der Teilung kann man sehr deutlich die Körner und Querwände zu gleicher Zeit beobachten, außerdem sind die Körner meistens nicht dort gelegen, wo die Querwände später entstehen (Fig. 6, 9, 11).

Die Zellteilung erfolgt senkrecht zur Längsachse der Zelle, und es tritt dabei eine Querwand auf, was alles im Einklang ist mit der bakteriellen Natur von B, binucleatum. Die Querwand ist nach Heidenhain nur schwach färbbar (Fig. 9), so daß keine Gefahr besteht, daß man sie mit den großen Körnern verwechselt. An der Stelle, wo die Querwand sich gebildet hat, fängt die Zelle jetzt an, sich einzuschnüren (Fig. 16), wodurch die beiden Tochterzellen sich zuletzt gänzlich trennen (Fig. 6).

Kernteilung. — Während der Zellteilung haben die zwei Kerne (wie ich meiner Ansicht nach jetzt berechtigt bin die Körner zu nennen) sehr eingehende Aenderungen erfahren. Zuerst sammelt die chromatische

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Masse sich gegen die Zellwand zu an, und bildet so eine Art Scheibe (Fig. 5a, 16a).

In einem folgenden Stadium hat sich die chromatische Masse in einem Teile der Scheibe angesammelt, wodurch die andere Hälfte sich weniger intensiv färbt. Man kann jetzt in dem Kerne einen chromatischen und achromatischen Teil unterscheiden (Fig. 6a). Der achromatische Teil bildet eine Scheibe und der chromatische Teil sitzt dieser seitlich auf. Dieser so umgeformte Kernapparat fängt jetzt an sich zu teilen. Zuerst teilt sich das chromatische Körnchen und die zwei Tochterkörnchen rücken auseinander (Fig. 11a). Die achromatische Scheibe ist durch diese Zweiteilung gebrochen und durch das Auseinanderweichen der Tochterkörnchen wird die Scheibe zu einer geknickten Linie ausgezogen, welche sich dem Auge wie eine Zickzacklinie darstellt. (cf. Fig. 6b, 7a, 1, 2, 3, 4).

Die geknickte Linie mit den beiden Chromatinkörnchen an den Enden bricht nun in der Mitte durch und so entstehen zwei achromatische Fäden, je mit einem Körnchen an einem Ende. Zuerst kann man eine eigentümliche Krümmung der Teilstücke erkennen (Fig. 7b); nach und nach gleicht sich dies aber aus, und sie werden gerade (Fig. 8). Zu gleicher Zeit fängt das endständige Chromatinkörnchen an, sich gleichmäßig über das achromatische Stäbchen auszubreiten (Fig. 12). Hierdurch entstehen zwei nebeneinander gelegene Stäbchen (Fig. 4a, 9, 10), welche sich später zu zwei Körnern abrunden (Fig. 19, 20).

Der oben beschriebene Teilungsmodus ist der typische. Es treten aber, zumal in der Verteilung der chromatischen Substanz über die achromatische Aenderungen auf, welche das Bild etwas komplizieren. Wenn die Teilungsfigur sich im Zickzackstadium befindet, und also normalerweise an jedem Ende ein Chromatinkörnchen gelegen ist, kommt es nicht selten vor, daß die chromatische Masse sich schon jetzt teilweise über die achromatische Linie verteilt (Fig. 2) oder sich in drei Körnchen ansammelt (Fig. 5b). Alle diese Gebilde sind jenen der diffusen Kerne von B. maximus buccalis unter anderen Bakterien mit Spiralkernen überaus ähnlich; nur sind sie bei den letzteren Mikroorganismen viel länger und bestehen aus einer (anscheinend) wechselnden Anzahl Windungen.

Bisweilen beobachtete ich Bilder, welche Anhaltspunkte geben könnten für die Annahme, daß die zwei Zickzacklinien in der Zelle von B. binucleatum (welche, wie oben gezeigt wurde, nichts anderes sind als Teilungsstadien der Kerne) unter Umständen in Verbindung treten können, um einen Zickzackliniendoppelkern von zwei Windungen zu bilden. Dergleichen Bilder sind in Fig. 13, 14, 15 und 21 wiedergegeben. Ob die zwei Windungen sich nur aneinander legen, oder ob sie wirklich in Verbindung treten, vermag ich zur Zeit mit Sicherheit nicht zu sagen. Fig. 14 scheint zu Gunsten letzterer Annahme zu sprechen; das Körnchen, das auf der Grenze der zwei Zickzacklinien gelegen ist, ist allem Anschein nach einfach und nicht aus zwei nebeneinander gelegenen Körnchen zusammengesetzt, wie man erwarten würde, wenn die Zickzacklinien sich nur aneinander gelegt hätten. Dasselbe ist der Fall mit Fig. 13 und 15, nur scheint es, als ob eine der zwei Zickzacklinien auseinander gefallen wäre. In Fig. 21 sind nur Teilstücke der Zickzacklinien zu sehen, so daß darüber nichts Näheres zu sagen ist.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IV. Zusammenfassung.

Es kann wohl kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß man es bei den zwei Körnern von B. binucleatum mit echten Kernen zu tun hat. Dafür sprechen folgende Gründe:

1) Die Körner haben die Größe, welche sich eventuell vorfindende Zellkerne mutmaßlich haben würden; auch verhalten sie sich färberisch wie echte Kerne (Giemsafärbung).

2) In ihrem chemischen Verhalten unterscheiden sich die Körner scharf von den bei den Bakterien bekannten Reservestoffen, wie Fett, Volutin und amyloidartige Substanz.

3) Die Körner geben die wichtigsten Chromatinreaktionen. Gegen einige zeigen sie ein abweichendes Verhalten. Dieses spricht aber nicht gegen die Kernnatur, weil die echten Kerne der Epithelzellen sich ebenso abweichend verhalten.

4) Die Körner können nicht als Querwandanlagen angesehen werden, denn sie befinden sich oft an Stellen, wo die Querwand nicht entsteht; weiters finden sie sich schon in Zellen, welche eben aus einer Zweiteilung hervorgegangen sind, und endlich treten die Körner und Querwände nebeneinander auf, was mit der Natur einer Querwandanlage unvereinbar ist.

5) Die Körner finden sich immer in Zweizahl in der Zelle vor. Vor der Zweiteilung teilen sich die Kerne ebenfalls, so daß jede Tochterzelle wiederum zweikernig ist. Dieses Verhalten spricht ebensowenig für die Annahme, daß man es hier mit Reserveprodukten zu tun hätte, und steht ganz im Einklang mit der mutmaßlichen Kernnatur.

Durch diese chemischen und morphologischen Eigenschaften der Körner dokumentieren diese sich, meines Erachtens, in unzweideutiger Weise als echte Kerne, so daß es nun, auch nach den Ergebnissen von Meyer und Mencl als erwiesen gelten kann, daß bei einem (wenn auch vielleicht kleinem) Teile der Bakterien echte Kerne vorkommen.

Aus diesen Untersuchungen kann man noch etwas anderes ersehen, was von Interesse ist für die vergleichende Morphologie der Bakterien: Wenn die Kerne von Bacterium binucleatum sich teilen wollen, gehen sie zuerst in ein mehr diffuses Stadium über. In diesem Stadium hat der Kern eine Form, welche die größte Uebereinstimmung zeigt mit der Kernspirale von Bac. maximus buccalis, Spir. giganteum etc., Spirochaeta Balbianii. Man hat auch hier ein achromatisches Gerüst vor sich, welchem Chromatinkörnchen aufgelagert sind. Die Teilung der Zickzacklinie bei B. binucleatum findet sein Analogon in dem Auseinanderfallen des Spiralfadens in einzelne Stäbchen, was zumal bei Sp. Balbianii auftritt. Eine dritte Uebereinstimmung findet sich in der Tatsache, daß die Körnchen von B. binucleatum sich (ebenso wie jene der drei anderen Organismen) unter Umständen gleichmäßig über die ganze verteilen. Alles in allem ist es also höchst wahrscheinlich, daß man dieses Stadium in der Kernteilung von B. binucleatum mit den Kernspiralen von Bac. maximus etc. vergleichen darf.

In diesem Stadium können die Kerne anscheinend längere Zeit verharren und sie können währenddem in eine mehr oder weniger innige Verbindung treten. Dieses beweist, daß diesen Kernen eine gewisse Tendenz zukommt, in ein mehr diffuses, Stadium überzugehen, aus welchem Stadium nach der Teilung sich der kompakte Kern wiederum regeneriert. Vergleicht man hiermit die Befunde, welche bei Bac.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

maximus buccalis etc. erhalten wurden, so wird es wahrscheinlich, daß man in der Kernspirale letzterer Organismen eine niedrigere Stufe der Entwickelung zu erblicken hat, eine Stufe, welche in gewissen Stadien des Entwickelungscyklus der Kerne von B. binucleatum wiederkehrt, dort aber, im Gegensatz zu den drei oben genannten Organismen, nicht permanent ist. Diese Anschauung ermöglicht eine einheitliche Auffassung der von Schaudinn, Guilliermond, Meyer, Mencl und mir gefundenen Tatsachen: Die von Schaudinn und Guilliermond beschriebenen Kernstrukturen sind wohl die am wenigsten entwickelten, die Kernmasse ist diffus im Protoplasma verteilt; eine etwas höhere Stufe stellen die von mir beschriebenen Kernspiralen dar, welche sich ungezwungen aus den vorigen ableiten lassen. Den höchsten Grad der Entwickelung erreichen die echten Bakterienkerne, welche durch die eigentümlichen Formänderungen bei B. binucleatum ihre Verwandtschaft mit den vorigen Gruppen kundgeben. Späteren Forschungen wird es vorbehalten bleiben, zu untersuchen, ob es vielleicht möglich ist, neben der bisher üblichen morphologischen Unterscheidung der Bakterien in Stäbchen, Kokken etc. auf Grund der Kernformen ein Bakteriensystem aufzustellen auf rein morphologischer Grundlage.

Zuletzt sei noch auf die Uebereinstimmung der Kernverhältnisse von B. binucleatum mit denen der von Schaudinn (10) studierten Amoeba binucleata hingewiesen. Bei letzterem Protozoon, welches auch normalerweise zweikernig ist, geht der Zellteilung ebenfalls eine Kernteilung voran, so daß die Zelle einen Augenblick vierkernig ist. Bei beiden Organismen ist es sehr beachtenswert, daß bei der Zellteilung jede Zelle nur die Abkömmlinge eines einzigen der zwei Kerne der Mutterzelle bekommt. Die zwei Kerne sind also vollkommen gleichwertig.

Literatur.

1) Guilliermond, Contribution à l'étude cytologique des bactéries. (Compt. Rend. Ac. d. Sc. Séance du 6 juin 1906.)
2) —, Quelques remarques sur la structure des bacilles endosporés. (Compt. Rend. Soc. de biol. Séance du 19 janvier 1907.)
3) Mencl, Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904.)
4) Cytologisches über die Bakterien der Prager Wasserleitung. (Ebenda. Bd. XV. 1905.)
5) —, Nachträge zu den Strukturverhältnissen von Bacterium Gammari. (Arch. f. Prot.-Kunde. Bd. VIII. 1907.)
6) Meyer, Ueber Kerne etc. der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)
7) Rayman et Kruis, Des noyaux des bactéries. (Bull. intern. Ac. d. Sc. de Bohème. 1903.)
8) Schaudinn, Zur Kenntnis der Bakterien und verwandten Organismen. I. Bac. Bütschlii. (Arch. f. Prot.-Kunde. Bd. I.)
9) —, Idem II. Bac. Sporonema. (Ebenda. Bd. II.)
10) —, Ueber die Teilung von Amoeba binucleata. (Sitz.ber. der Ges. naturf. Freunde zu Berlin. 1895. No. 6.)
11) Swellengrebel, Zur Kenntnis der Cytologie von Bac. maximus buccalis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)
12) —, Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. (Compt. Rend. Soc. de biol. T. 53. Séance du 9 février 1907.)
13) Vejdowsky, Bemerkung über den Bau und Entwickelung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900.)
14) —, Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung. (Ebenda. Bd. XI. 1904.)

Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **J. Kürsteiner,** Assistent.

Mit 6 Figuren.

(Fortsetzung.)

2. Die Herstellung absolut sauerstofffreier Kulturräume und Kulturmedien.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß obligat anaërobe Bakterien nach aufgetretener Entwickelung fortgesetzt in neue gleichartige Nährböden übergeimpft werden können, ohne daß sich irgend eine Verminderung der Wachstumsintensität bemerkbar macht. Folgender Versuch kann dies bestätigen: Eine Reinkultur von Bacillus putrificus coli Bienstock wird in ausgekochte Dextrosebouillon in gewöhnlichem Reagenzglas geimpft, anaërob verschlossen und zu 37° gestellt. Nach eingetretener Entwickelung, d. h. nachdem intensive Trübung der Bouillon aufgetreten ist, wird mittels einer großen Oese möglichst schnell eine zweite Dextrosebouillonkultur in gleicher Weise wie die erste angelegt und so fort, bis eine ganze Reihe solcher Tochterkulturen, wobei immer die letzte von der unmittelbar vorhergehenden abstammt, entstanden ist. Bei dieser Versuchsanordnung läßt es sich nicht vermeiden, daß sowohl das Impfmaterial als auch der zu impfende Nährboden mit dem Sauerstoff in Kontakt kommen. Es entsteht die Frage, ob sich das Versuchsresultat nicht ändern würde, wenn Impfmaterial und Nährboden konstant unter anaërobem Verschluß gehalten würden, so daß die Impfung bei Sauerstoffausschluß in den sauerstofffreien Nährboden geschehen könnte.

Schon Pasteur (108) zeigte in einer uns nicht zugänglichen Arbeit, daß die kleinen Sauerstoffmengen, mit denen die Anaëroben bei der Impfung in Berührung kommen, für die normale Entwickelung nicht nötig sind, indem er die Ueberimpfung in einem zweiteiligen Zuchtrohre unter vollkommenem Abschluß der Luft vornahm.

Wir sind bei Ausführung von Sporenresistenzprüfungen auf den Gedanken gekommen, ein einfaches praktisches Versuchsglas herstellen zu lassen, dessen besonderer Vorteil darin bestehen sollte, die Ueberimpfung des zu prüfenden Materials in einen geeigneten Nährboden mit möglichster Vermeidung der Luftinfektion vornehmen zu können. Ein solches Versuchsglas besteht aus einem gewöhnlichen starken Reagenzglas, das auf halber Höhe durch ein Querröhrchen mit einem kürzeren ähnlichen Glas verschmolzen ist, dessen Boden sich ca. 2 cm unterhalb des Verbindungsröhrchens befindet. Auf den Grund des kurzen Gläschens bringt man mit Hilfe einer sterilen Pipette das Sporenmaterial; im längeren Gläschen befindet sich der Nährboden, der auf gewöhnlichem Wege — wie in einem einfachen Reagenzglas — sterilisiert worden ist. Will man nun eine Sporenresistenzprüfung ausführen, so stellt man einige derart vorbereitete Versuchsgläschen nach Belieben 1, 5, 10 Minuten oder länger in den strömenden Dampf oder besser in kochendes Wasser. Nach Ablauf der verschiedenen Zeitpunkte nimmt man je ein Gläschen heraus

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und läßt nun das erhitzte Sporenmaterial durch geeignete Neigung aus dem kurzen Gläschen in den Nährboden hinüberfließen, ohne es dabei irgendwie einer Luftinfektionsgefahr aussetzen zu müssen. Sodann schüttelt man das Gläschen im Handgelenk wie beim Anlegen einer gewöhnlichen Schüttelkultur, läßt den Nährboden erstarren und stellt die Kultur in den Brutschrank. Es sind zwei Vorteile, die dieses Verfahren auszeichnen: Das zu prüfende Material wird einwandfrei erhitzt, indem es in möglichst direkte Berührung mit dem kochenden Wasser oder Dampf kommt. Ferner ist bei diesem Verfahren die Möglichkeit einer bei diesen Versuchen besonders lästigen Infektion ausgeschlossen.

Nebenstehende Abbildung zeigt ein solches zweiteiliges Zuchtröhrchen mit anaërobem Verschluß in $^1/_2$ natürlicher Größe.

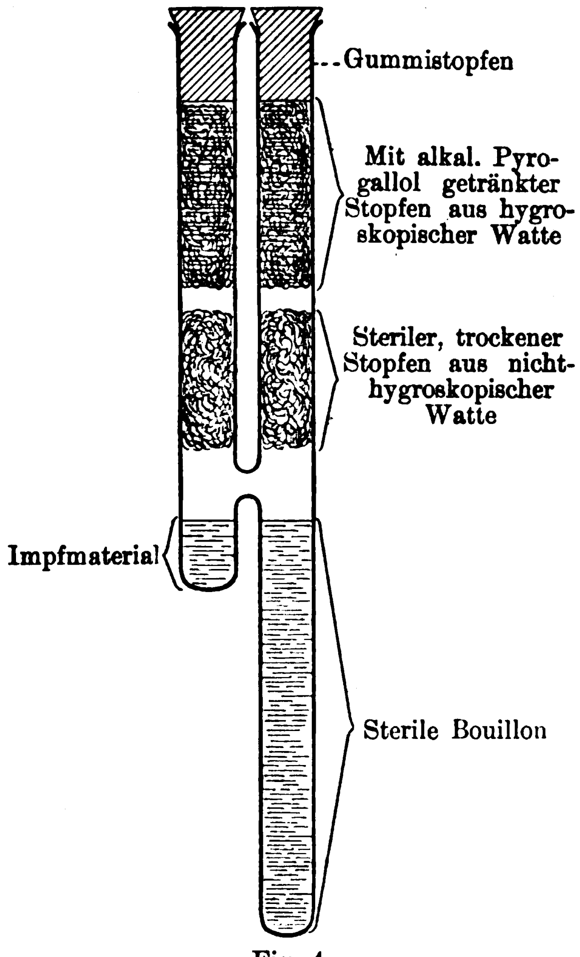


Fig. 4.

Das gleiche Versuchsgläschen benutzten wir nun zur Kontrolle der von Pasteur festgestellten Tatsache, daß ein anaërober Mikroorganismus unter vollkommenem Sauerstoffausschluß übergeimpft und zur Entwickelung gebracht werden kann. Die Art und Weise der Ueberimpfung war gegeben. Ferner hatte sich der modifizierte Wrightsche Verschluß bereits so gut bewährt, daß wir ihn auch bei diesen Versuchen in Anwendung brachten.

Es wurde in einem ersten Versuch die sterile Dextrosebouillon im größeren Reagenzgläschen längere Zeit ausgekocht. Auf den Grund des kürzeren Reagenzgläschens brachten wir mittelst steriler Pipette einige Tropfen einer Putrificus-Reinkultur in Bouillon. Beide Gläschen wurden dann sofort in gewöhnlicher Weise anaërob verschlossen und 5 Tage bei 37° C stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Ueberimpfung vorgenommen und nun beobachtet, ob noch eine Entwickelung resp. Trübung der Dextrosebouillon bei 37° zu konstatieren sei. Sie trat schon nach 18 Stunden ein. Dieser Versuch zeigte bei mehrfacher Wiederholung dasselbe Resultat, auch dann, wenn man die Sauerstoffabsorption durch den anaëroben Verschluß vor der Ueberimpfung 10 Tage lang bei 37° wirken ließ, so daß man außerordentlich weitgehend anaërobe Verhältnisse voraussetzen konnte.

Zur Kontrolle der vollständigen Sauerstoffabwesenheit in unserem Kultursystem beschickten wir das längere Reagenzgläschen mit wasserheller 20-proz. Pyrogallolsäure, das kürzere mit ebensolcher Kalilauge,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ließen beide 10 Tage bei 37° unter anaërobem Verschluß und vermischten dann die beiden Flüssigkeiten durch Neigen der Gläschen. Es trat nach der Vereinigung absolut keine Braun- oder Schwarzfärbung auf, dagegen ließ das alkalische Pyrogallol eine blaßrötliche Farbe erkennen, die jedoch im Laufe der Zeit nicht intensiver wurde. Dieser Befund ließ darauf schließen, daß die letzten Sauerstoffspuren vom Pyrogallolpfropf vollständig absorbiert worden waren. Sehr deutlich konnten wir das Fehlen auch der geringsten Sauerstoffmengen mit Hilfe der Leuchtbakterien zeigen. Es wurden zu diesem Zweck in das längere Reagenzgläschen mittels steriler Pipette 10 ccm sterile Kochsalzbouillon und auf den Grund des kleinen Reagenzglases ca. 2 ccm sterile Kochsalzbouillon eingefüllt. Letztere impften wir ab einem leuchtenden Belag einer Kochsalz-Gelatinestrichkultur; während die Kochsalzbouillon im längeren Reagenzglas ungeimpft blieb. Nach 3 Tagen trat im kleineren Gläschen Trübung und intensives Leuchten auf. Nun wurden alle Versuchsgläschen gleichzeitig anaërob verschlossen und bei der Optimaltemperatur (ca. 10° C) aufgestellt. Nach 2 Stunden war das Leuchten in den kürzeren Reagenzgläsern verschwunden und es wurde nun ein erstes Gläschen geneigt, d. h. die entleuchtete Kultur mit der ungeimpften Kochsalzbouillon unter Sauerstoffausschluß gemischt. Es trat ein sehr deutliches Leuchten auf. Von Zeit zu Zeit wurde mit weiteren Gläschen derselbe Versuch ausgeführt, 72 Stunden nach Montierung des Anaërobenverschlusses zum letztenmal mit positivem Erfolg. Nach 96 Stunden war trotz bester Mischung der geimpften und ungeimpften Kultur und trotz starken Schüttelns absolut kein Leuchten zu konstatieren. Oeffneten wir jedoch das Versuchsglas, so trat dasselbe momentan sehr intensiv auf, ein Beweis also, daß die Kultur durch die absolute Anaërobiose nicht gelitten hatte; ein Beweis aber auch dafür, daß in diesem Fall das konstatierte Nichtleuchten nach Mischung des geimpften und ungeimpften Nährbodens nur mit dem Fehlen des Sauerstoffs in letzterem zusammenhängen konnte. Es darf also angenommen werden, daß aus einer sich im Reagenzglas unter dem Wrightschen Verschluß befindlichen Nährlösung in 4 Tagen bei 10° C aller freie Sauerstoff absorbiert ist. Bei höheren Temperaturen würde der betreffende Prozeß voraussichtlich in bedeutend kürzerer Zeit ablaufen, doch ist in diesem Falle die Kontrolle durch die Leuchtbakterien infolge ihrer ausgesprochenen Wärmeempfindlichkeit ausgeschlossen. Der Nachweis geringster Sauerstoffspuren durch Leuchtbakterien wurde zuerst durch Beijerinck (9) erbracht. Hannig führt im Referat über Beijerincks Arbeit folgenden Versuch an:

„Im Mörser zerstoßene Blätter von weißem Klee werden mit destilliertem Wasser aufgeschwemmt und filtriert. Ein solches frisch bereitetes Kleeblattfiltrat in einer dunkel gewordenen Leuchtbakterienkultur in einem Reagenzglas einige Minuten der vollen Sonne ausgesetzt, kann ein minutenlanges Nachleuchten im Dunkeln hervorrufen. Die Reaktion ist so empfindlich, daß sogar Streichholzbeleuchtung von nur 1 Sekunde Dauer genügt, schwache Phosphoreszenz zu verursachen".

Dieser Befund dürfte die Tatsache, daß die Leuchtbakterien den feinsten Indikator der Sauerstoffanwesenheit darstellen, am schlagendsten beweisen. Seine Erwähnung schien uns von Interesse, weil er ein Seitenstück bildet zu verschiedenen unserer Versuche, die auf anderem Wege dartun, daß die Leuchtbakterien ein Sauerstoffreagens von geradezu verblüffender Empfindlichkeit bilden. Es lag nun nahe zu versuchen, die vollständige Sauerstoffabsorption im Reagenzglas durch geeignete

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Maßnahmen möglichst rasch, nicht erst nach 4 Tagen, eintreten zu lassen. Dies sollte dadurch geschehen, daß man den im Nährboden gelösten Sauerstoff, welcher der absorbierenden Wirkung des Pyrogallol-Wattepfropfs nur nach und nach zugänglich wird, mittelst eines zweckmäßigeren Verfahrens absorbierte. So würden gewissermaßen zwei sauerstoffabsorbierende Stellen geschaffen, um die denkbar strengst anaëroben Verhältnisse in kurzer Zeit herzustellen. Das Problem einer auch theoretisch absoluten Anaërokultur im Sinne Stülers (142) wäre damit gelöst. Dieses Ziel hält Stüler wegen der enormen Schwierigkeit, die letzten Reste der fest der Glasoberfläche adhärierenden Luft zu entfernen, für sehr schwer erreichbar. Er schreibt (l. c. p. 307): „Sollte aber einmal aus wissenschaftlichen Gründen eine auch theoretisch absolut einwandfreie Anaërokultur verlangt werden, so müßte versucht werden, den an der Innenfläche der Kulturgläser adhärierenden Sauerstoff ganz zu entfernen. Die Kulturgefäße müßten zunächst in leerem Zustande, ohne Nährboden, stark erhitzt, evakuiert, mit elektrischen Entladungen behandelt und vielleicht noch mit einer Gefrierkammer von sehr niedriger Temperatur verbunden werden. Erst wenn so mit Sicherheit aller Sauerstoff entfernt wäre, müßte absolut sauerstofffreier Wasserstoff eingelassen, der vorher sauerstofffrei gemachte Nährboden eingebracht, im Wasserstoffstrom geimpft und der Apparat durch Zuschmelzen geschlossen werden.“ Wir glauben diesen der Glaswand fest adhärierenden Sauerstoff auf viel einfachere Art absorbieren zu können mit Zuhilfenahme eines obligat aëroben Mikroorganismus. Wenn übrigens die erwähnten, der Glaswand adhärenten, minimalen Sauerstoffmengen irgendwie in Betracht kommen könnten, so müßten sie doch wohl beim Schütteln einer jungen Leuchtbakterienkultur unter anaërobem Verschluß, resp. beim Bespülen der Glaswand und des Verbindungsröhrchens, wenn auch nur ein schwaches Leuchten hervorrufen. Dies ist aber, wie wir in unserem letzterwähnten Versuch nachgewiesen haben, nicht der Fall. Es kann also angenommen werden, daß diese minimalsten Sauerstoffquantitäten — wenn sie überhaupt existieren — zu gering sind, um die Leuchtbakterien zum Leuchten zu bringen. Stüler gibt übrigens selbst zu (l. c. p. 300), daß „dieser fest an der Oberfläche des Kulturapparates adhärierende Sauerstoff auch an derselben adhärent bleibt und also für die Kultur selbst gleichgültig ist“.

In der historisch kritischen Uebersicht der gebräuchlichsten Arbeitsverfahren haben wir bereits auf die praktische Verwendung des Verfahrens der Mischkultur hingewiesen. Es ist besonders Beijerinck (8), der auch neuerdings wieder darauf hinweist, daß die Bakterien die Eigenschaft besitzen, ihrem Nährboden die letzten Spuren Sauerstoff zu entreißen, aus welchem Grunde bei Mischkultur von Aëroben mit Anaëroben letztere ohne weiteres zur besten Entwickelung gelangen. Er schreibt (l. c. p. 134): „On constate que les cultures des microbes aérobies et anaérobies ont la propriété d'absorber facilement les dernières traces d'oxygène libre présentes dans leurs milieux nourriciers. C'est là la raison pour laquelle les cultures des organismes anaérobies réussissent si bien d'ordinaire, quand on emploie d'autres microbes pour éliminer l'oxygène libre. On voit de plus qu'il n'est pas possible de chasser des milieux nutritifs les dernières traces d'oxygène libre, même par des réactifs comme H_2S et Na_2SO_3, sans l'intervention des microbes eux-mêmes.“

Mit welcher Intensität die Sauerstoffabsorption durch die Kultur

Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

selbst erfolgt, ist durch unsere Versuche mit Leuchtbakterien gezeigt worden. In einer intensiv leuchtenden jungen Kultur im gewöhnlichen Reagenzglas ist schon vor Ablauf von 2 Stunden unter anaërobem Verschluß jede Spur von Leuchten verschwunden. Beijerinck (9) schreibt (l. c. p. 157): „Les microbes eux-mêmes possèdent donc le pouvoir d'éliminer complètement l'oxygène de leur entourage alors que les agents chimiques en sont incapables."

Wir machten nun folgenden Versuch: „In unserm zweiteiligen Zuchtrohr wurde gewöhnliche Bouillon sterilisiert, mit einer Reinkultur von Bac. mesentericus vulgatus Flügge geimpft und 12 Stunden unter Watteverschluß zu 37° C gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit war die Bouillon getrübt, d. h. Mesentericus in bester Entwickelung. Nun wurde die Kultur im kleinen Reagenzglas mit Material aus einem Putrificus-Stich geimpft, hierauf beide Mündungen des zweiteiligen Zuchtrohres sofort anaërob verschlossen und wieder zu 37° C gestellt. Es trat nun im kleinen Reagenzglas nach 1 Tage die durch Putrificus verursachte typische intensive Trübung der Bouillon auf. Erst nach 4 Tagen ließen wir ca. $^1/_{10}$ ccm dieser Kultur in das durch die vereinigte Tätigkeit des aëroben Mikroorganismus und des alkalischen Pyrogallolpfropfs von den letzten Sauerstoffspuren befreite größere Reagenzglas hinüberfließen und wollten nun konstatieren, ob noch eine Entwickelung ermöglicht sei. Diese trat auch hier nach Ablauf eines Tages in voller Intensität auf. Es dürfte damit der Beweis der Entwickelung der obligat Anaëroben bei vollkommenem Sauerstoffausschluß erbracht sein. Es bleibt allerdings für diesen speziellen Fall dahingestellt, in welchem Grade der in den Nährboden eingeimpfte Mesentericus sich an der Absorption des Sauerstoffs beteiligt hat, da, wie aus einem früher erwähnten Versuch hervorging, die 4 Tage lang dauernde Wirksamkeit des Pyrogallolverschlusses allein schon im stande ist, wirklich anaërobe Verhältnisse zu schaffen. Ein nächster zu anderen Zwecken angestellter Versuch wird indessen zeigen, daß eine Mesentericus-Kultur den Nährboden ebenso schnell wie eine Leuchtbakterienkultur von freiem Sauerstoff säubert.

Es blieb nämlich noch die Frage einer allfälligen Bindung von Sauerstoff durch Mesentericus-Kulturen zu entscheiden. Pfeffer (118) hat durch Ewart Untersuchungen über die lockere Bindung von Sauerstoff in gewissen Bakterien anstellen lassen. Aus diesen resultiert, daß die Sauerstoffspeicherung nur bei farbigen Formen beobachtet werden kann, und daß der Farbstoff (ähnlich wie Hämoglobin) den wirksamen Körper darstellt, denn die Speicherung fällt weg, wenn den Bakterien die Farbstoffproduktion abgezüchtet wird. Die Eigenschaft einzelner Farbstoffbakterien, Sauerstoff zu speichern und denselben gegebenenfalls an einen sauerstofffreien Raum abgeben zu können, wurde so ermittelt, daß in dem Hängetropfen einer feuchten Kammer ein bewegliches, als Reagens auf Sauerstoff dienendes Bakterium (z. B. B. termo) beobachtet wurde, während auf den Boden der Feuchtkammer der auf seine Sauerstoffabgabe zu untersuchende Organismus kam. Wurde Wasserstoff durchgeleitet so wurde die Bewegung der ersteren Form bald sistiert, kam aber wieder zum Vorschein, falls die auf dem Boden der Kammer befindliche Form Sauerstoff entwickelte, und so ergab sich, daß die genannten Organismen (wie auch Holzkohle und Hämoglobin) diese Fähigkeit besitzen. Die Sauerstoffabgabe wird mit der Zeit natürlich schwächer, um nach einigen (bis 12) Stunden zu erlöschen; doch können

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich die betreffenden Bakterien an der Luft von neuem mit Sauerstoff beladen. Wir prüften nun die Fähigkeit des Mesentericus, Sauerstoff zu speichern mit Hilfe der Leuchtbakterien.

Es wurde in das längere Reagenzglas unseres zweiteiligen Zuchtrohres sterile Dextrosebouillon mit sterilen Pipetten eingefüllt. Zur Sicherheit wurden die so beschickten Zuchtrohre im Dampftopf noch fraktioniert sterilisiert und dann die sterile Dextrosebouillon mit Bac. mesentericus geimpft und zu 37° C gestellt, bis sich die typische Haut an der Oberfläche gebildet hatte. Nun wurde die Kochsalzbouillon im kleinen Reagenzglas mit Bact. phosphoreum geimpft und bei Optimaltemperatur belassen, bis sich eine deutliche Trübung, resp. bei Luftzutritt intensives Leuchten eingestellt hatte. Nachdem dies geschehen war, wurden die Mündungen des Zuchtrohres in gewöhnlicher Weise anaërob verschlossen und gewartet, bis das Leuchten vollständig verschwunden war. Dann ließen wir sofort durch geeignete Neigung die entleuchtete Kultur in die Mesentericus-Kultur hinüberfließen, konnten dabei jedoch absolut kein Leuchten beobachten, was doch hätte eintreten müssen, wenn Mesentericus im stande wäre, Sauerstoff zu speichern, resp. abzugeben. Andererseits war durch diesen Versuch auch bewiesen, daß die im Moment der Anbringung des Anaërobenverschlusses in der Kultur vorhandenen Sauerstoffmengen sehr schnell, bezw. in 2 Stunden, von der Kultur verbraucht worden sind.

Wir halten daher an der Auffassung, daß bei unserer Versuchsanordnung sauerstofffreies Impfmaterial unter Sauerstoffausschluß in ein sauerstofffreies Medium übergeimpft und zur besten Entwickelung gebracht werden kann, fest und bauen auf dieser Tatsache weiter.

3. Successive Ueberimpfungen in größerer Zahl bei dauerndem Ausschluß des Sauerstoffs.

Beijerinck (7) schreibt (l. c. p. 410): „Pour ce qui concerne les anaérobies obligatoires étudiés, j'ai simplement démontré que des traces d'oxygène libre accélèrent leur développement et leur motilité, mais je n'ai pas encore montré qu'ils finiraient par périr en l'absence complète d'oxygène libre. Des expériences dans ce but ne m'ont pas encore donné de résultats certains mais ont seulement montré que, prenant apparemment les précautions nécessaires l'anaérobiose peut sans oxygène continuer longtemps. C'est ainsi que je pus faire se succéder sept fermentations butyliques sans air; mais à la septième je me mis à douter si les bactéries s'étaient modifiées ou s'il y avait eu infection par des ferments butyliques provenant du dehors."

Es geht aus dieser Bemerkung die Schwierigkeit hervor, eine Versuchsanordnung ausfindig zu machen, die viele absolut anaërobe Ueberimpfungen mit Vermeidung jeder Infektionsgefahr ermöglicht. Wir glaubten dieses Problem mit Anlehnung an die Konstruktion unseres zweiteiligen Zuchtrohres lösen zu können. Denken wir uns die beiden durch ein eingeschmolzenes Glasröhrchen verbundenen Reagenzgläser gleich lang. An das zweite wird nun ein ebenso langes drittes Reagenzglas so angeschmolzen, daß der verbindende Gang vom zweiten ins dritte höher zu liegen kommt, als derjenige vom ersten ins zweite Reagenzglas. In gleicher Weise wird ein viertes an das dritte Reagenzglas angeschmolzen u. s. w. Wir haben so Reihen von bis 16 Gläsern her-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stellen lassen. Nebenstehende Abbildung zeigt eine Viererreihe mit anaërobem Verschluß. Jedes einzelne Glas der Reihen kann wie ein gewöhnliches Reagenzglas gereinigt werden und die langen Reihen lassen sich, aufrecht auf einen Drahtkorb gebunden, in einem etwas großen Dampftopf ohne weiteres fraktioniert sterilisieren. Ist dies geschehen, so kann der flüssige Nährboden mittelst steriler Pipette in jedes Glas eingefüllt und die ganze Reihe vorsichtshalber nochmals fraktioniert sterilisiert werden. Die einzige Schwierigkeit bei der Herstellung einer solchen Kulturreihe besteht in dem richtigen Auffüllen der einzelnen Gläser. Es wird demjenigen, der zum erstenmal eine solche Reihe herstellt, vielleicht etwas Mühe machen, die einzelnen Gläser mit dem richtigen Quantum Nährflüssigkeit zu beschicken. Es ist dies einigermaßen Uebungssache und kann am besten dadurch erlernt werden, daß man die einzelnen Gläser mit Wasser füllt und nun durch Neigen der Reihe die für die Ueberimpfung richtigsten Niveaux bestimmt und mit Blaustift markiert. Es wird sich dann herausstellen, daß man die Gläser so auffüllen muß, daß ein leichtes Neigen der Reihe genügt, um Material aus dem ersten ins zweite Glas hinüberzubringen. Dieses wird dadurch soweit aufgefüllt, daß ein weiteres schwaches Neigen genügt, um die sterile Nährflüssigkeit des dritten einwandsfrei aus dem zweiten Glas impfen zu können. So schreitet man mit der Impfung fort, bis das letzte Glas, das natürlich nicht ganz voll zu sein braucht, erreicht ist. Die Impfungen geschehen selbstverständlich immer unter anaërobem Verschluß, den wir absichtlich an jedem einzelnen Glas besonders anbrachten. Dieses Vorgehen hat sich ausgezeichnet bewährt. Die Zweckmäßigkeit des von Burri modifizierten Wrightschen Verschlusses haben wir schon früher ausführlich erwähnt und die intensive sauerstoffabsorbierende Wirkung des alkalischen Pyrogallols mit Hilfe der Leuchtbakterien unanfechtbar bewiesen. Als es sich um die Frage des zweckmäßigsten Verschlusses unserer Reihen handelte haben wir allerdings auch erwogen, ob es nicht ratsam sei, statt jedes Glas einzeln zu verschließen, einen praktischen für alle gemeinsamen alkalischen Pyrogallolverschluß anzubringen. Es wurde zu diesem Zwecke ein einfacher Apparat konstruiert, der ermöglichen sollte, die sauerstoffabsorbierende Wirkung des alkalischen Pyrogallols auch auf relativ große Distanz nachzuweisen. Drei gewöhnliche starke Reagenzgläser wurden ca. 5 cm unterhalb ihrer Mündung mittelst zwei je 50 cm langen, starken, ziemlich weitlumigen eingeschmolzenen Glasröhren miteinander verbunden, sodaß eine ca. 1 m lange Reihe entstand, die jedoch nur an den Enden und in der Mitte je ein mit sterilem Wattepfropf verschlossenes Reagenz-

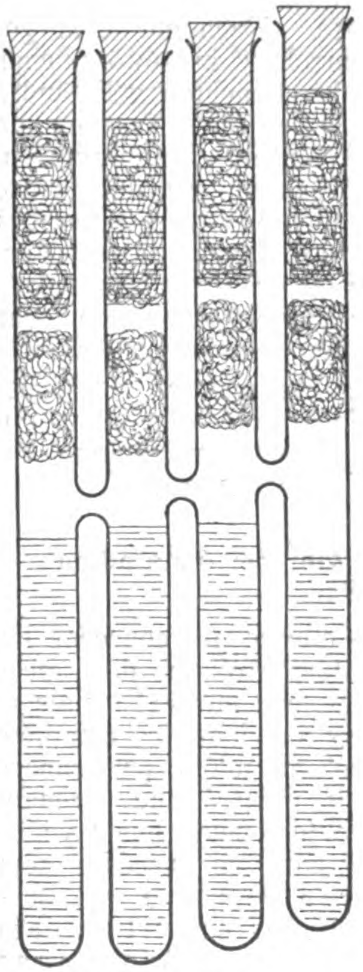


Fig. 5.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glas aufwies. Diese Reihe konnte im Dampftopf mühelos fraktioniert sterilisiert und, indem man unter je ein Reagenzglas ein mit Watte gefülltes Becherglas stellte, in einem großen Brutschrank aufbewahrt werden. Wir brachten nun mittelst steriler Pipette sterilisierten Milchzuckeragar in das mittlere Reagenzglas. Nachdem der Agar erstarrt war, wurde er mittelst Stichnadel mit Putrificus geimpft. Nun füllten wir die beiden endständigen Gläschen halb voll mit frisch hergestellter wasserheller Pyrogallussäure und ließen in dieselbe ein Stück paraffiniertes Stangenkalihydrat fallen. Hierauf verschlossen wir die drei Reagenzgläschen, indem der sterile Wattepfropf abgesengt, der verkohlte Teil weggeschnitten und der so behandelte sterile Watteprofp ins Gläschen gestoßen wurde. Für den luftdichten Abschluß benützten wir an den Wandungen angefeuchtete, gutpassende Kautschukstopfen. Nachdem dieser Verschluß angebracht war, ließen wir das die feste Kalilauge umschließende Paraffin durch langsames Erwärmen schmelzen und brachten dadurch die Vereinigung des Pyrogallols mit der Kalilauge zu stande. Der einfache Apparat wurde sodann im Brutschrank aufgestellt. Nach wenigen Tagen war der Putrificus-Stich sehr deutlich sichtbar und wuchs in bester Entwickelung durch die ganze Schicht bis zur Oberfläche — das beste Zeichen, daß sich im mittleren Reagenzglas kein Sauerstoff mehr befand, obwohl es je 50 cm von den sauerstoffabsorbierenden Stellen entfernt war. Wir konnten die sauerstoffabsorbierende Wirkung des alkalischen Pyrogallols auf relativ große Strecken auch beweisen, indem wir im mittleren Reagenzglas ausgekochte Dextrosebouillon mit Putrificus impften. Es trat unter den genannten Verhältnissen bei Anwendung des eben beschriebenen Verschlusses nach Ablauf von 2 Tagen die charakteristische intensive Trübung der Bouillon auf. Wir konnten dieselbe nach 4 Tagen auch dann konstatieren, wenn wir das mittlere und das hintere Reagenzglas mit Bouillon beschickten und mit Putrificus impften. Die sauerstoffabsorbierende Wirkung des alkalischen Pyrogallols kann sich also bis auf 1 m Distanz bemerkbar machen. Allerdings zeigten zwei gleichzeitig mit der Reihe zu 37° gestellte mit Putrificus geimpfte Dextrosebouillonkulturen in Reagenzgläsern mit gewöhnlichem Wrightschen Verschluß (Kontrollen) die gleich intensive Trübung schon nach 1½ Tagen. Zum Nachweis der Reinheit der Kulturen wurden Agarschüttelkulturen angelegt.

Trotzdem wir aus diesen Versuchen ersahen, daß für unsere Reihen eventuell auch ein gemeinsamer Pyrogallolverschluß für alle Gläser gute Dienste leisten konnte, blieben wir doch bei unserer früheren Absicht, jedes Reagenzglas besonders zu verschließen. Die einfache und rasche Ausführbarkeit des Wright-Burrischen Verschlusses und die durch ihn in 4 Tagen erreichbare absolute Sauerstoffabsorption, auch aus der darunter befindlichen Nährlösung, lassen dieses Vorgehen als vollkommen gerechtfertigt erscheinen.

Für einen ersten Versuch benutzten wir also die aus 4 Reagenzgläsern bestehende Reihe, die wir, mit gewöhnlicher Bouillon gefüllt, im Dampftopf fraktioniert sterilisierten. Nachdem die Sterilität der Bouillon durch längeren Aufenthalt im Brutschrank erwiesen war, impften wir alle vier Nährböden mit einer Mesentericus-Reinkultur ab Kartoffel und stellten die Reihe wieder zu 37°. Nach 10 Stunden waren alle Nährböden deutlich getrübt. Nun impften wir die Mesentericus-Kultur im ersten Glas mit einer großen Oese aus einer durch Putrificus getrübten Bouillon und verschlossen sofort alle 4 Kulturgläser anaërob.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es scheint uns zweifellos, daß der in optimaler vegetativer Entwickelung befindliche, anerkannt sauerstoffbedürftige Mesentericus unter diesen Verhältnissen die letzten, auch die der Glaswand fest adhärierenden, mit Leuchtbakterien nicht mehr nachweisbaren Sauerstoffspuren vollständig absorbiert. Wir stellten nun die fertige, anaërob verschlossene Reihe zu 37° und beobachteten den Verlauf der Entwickelung des Putrificus. Nach 12 Stunden zeigte sich im ersten Glas die intensive charakteristische Trübung. Nach 2 Tagen wurde die zweite Kultur geimpft, und es trat dieselbe Erscheinung auf. Nach weiteren 2 Tagen wurde Kultur 3 und nach Ablauf derselben Zeit auch Kultur 4 geimpft. Beide zeigten das gleiche Bild intensiver Trübung. Die anaëroben Verschlüsse wurden nun entfernt und die Kultur im letzten Glas sofort mikroskopiert. Es waren im Präparat typische Putrificus-Formen ohne irgendwelche Involutionserscheinungen sichtbar. Gleichzeitig wurden aus der vierten Kultur auch zwei Milchzuckeragarschüttelkulturen angelegt, die nach drei Tagen die beiden Organismen, den obligat anaëroben Putrificus und den obligat aëroben Mesentericus in bester Entwickelung, ersteren, entsprechend der Sauerstoffabsorption durch letzteren, bis zur Oberfläche wachsend, zeigten. Wir wiederholten den Versuch mit der Viererreihe und kamen zu dem gleichen Resultat.

Es war nun weiterhin zu untersuchen, ob die Entwickelung des Putrificus in absoluter Anaërobiose auch bei einer größeren Zahl von Ueberimpfungen ungeschwächt fortdaure. Wir ließen, um dies feststellen zu können, vorerst eine aus 6 Gläsern bestehende Reihe anfertigen. Diese beschickten wir in ganz gleicher Weise mit gewöhnlicher Bouillon und sterilisierten sie fraktioniert im Dampftopf. Der Vorsicht halber ließen wir sie nachher noch 2 Tage bei 37°, um vor Infektion sicher zu sein. Dann wurden die Nährböden in den einzelnen Gläsern mit Mesentericus geimpft und zu 37° gestellt. Nach 10 Stunden war in allen Gläsern Trübung aufgetreten. Es wurde daher Kultur 1 mit Putrificus geimpft, sodann alle Gläser anaërob verschlossen, die Reihe zu 37° gestellt und in Abschnitten von 2—3 Tagen eine Weiterimpfung vorgenommen. Auch diese Reihe zeigte nach 14 Tagen in allen Gläsern dieselbe für Putrificus charakteristische intensive Trübung. Die mikroskopische Untersuchung der Kultur 6 ließ gar keine involvierten Formen erkennen. Das Präparat zeigte isolierte Sporen (Putrificus und Mesentericus), vegetative Stäbchen, typische vegetative Putrificus-Keulenformen und prächtige -Clostridien. Je eine große Oese wurde aus Kultur 6 auf Milchzuckeragar (Schüttelkultur), Dextrosebouillon und Eiweißnährboden (Passini-Achalme) geimpft und letztere beiden Nährböden anaërob verschlossen. Es traten in allen drei Kulturarten üppige Vegetationsbilder auf: In der Schüttelkultur ging das Wachstum des Putrificus entsprechend der sauerstoffabsorbierenden Tätigkeit des an der Oberfläche des Agars sich kräftig entwickelnden Mesentericus durch die ganze Schicht. Die anaërob verschlossene Dextrosebouillon war nach 2 Tagen sehr stark getrübt und das Eiweiß nach 10 Tagen bis auf einen kleinen Rückstand zersetzt. Irgend eine Involution oder Abschwächung des Organismus in morphologischer und physiologischer Hinsicht war nach dieser Kulturpassage unter konstant absolut anaëroben Verhältnissen nicht zu konstatieren.

An dieser Stelle mögen einige Versuche erwähnt sein, bei welchen die Leuchtbakterien an Stelle der Kartoffelbacillen als Sauerstoffabsorbenten benutzt worden sind. Ein Vorversuch zeigte, daß Pu-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

trificus in einer leuchtenden und nachträglich anaërob verschlossenen Kochsalzbouillon entwickelungsfähig sei. Ferner trat Entwickelung, resp. intensive, durch Putrificus verursachte Trübung unter Luftzutritt ein in leuchtenden Kochsalzbouillonkulturen, welche nach der Impfung mit Putrificus nicht sofort in den Brutschrank gebracht, sondern erst einige Tage bei 20° belassen worden waren. In einer sofort nach der Impfung mit Putrificus in den Thermostaten (37°) gestellten leuchtenden Kochsalzbouillonkultur trat bemerkenswerterweise unter Luftzutritt keine Entwickelung des Putrificus auf, weil die Leuchtbakterien bei dieser hohen Temperatur zu Grunde gingen und daher ihre sauerstoffabsorbierende Tätigkeit zu Gunsten des Putrificus nicht mehr in Betracht kommen konnte. Dieser Versuch bildet nur eine Bestätigung der von uns bei anderer Gelegenheit gemachten und mit den Angaben von Scholtz (136) und Matzuschita (86) übereinstimmenden Beobachtung, *daß nur* lebende Kulturen sauerstoffzehrender Mikroorganismen die Entwickelung der obligat Anaëroben fördern können. Wenn andererseits die intensive Trübung der mit Putrificus geimpften Leuchtbakterienkultur unter Luftzutritt eintrat, sofern man die geimpfte Kultur erst einige Tage bei 20° beließ, so ist leicht einzusehen, daß sich Putrificus während dieser Zeit im Schutze des von den Leuchtbakterien besorgten Sauerstoffentzuges so weit entwickeln konnte, daß er sich nachher trotz des Luftzutrittes, nun gestützt auf seine eigene sauerstoffabsorbierende Tätigkeit, zu behaupten vermochte. Wir beschickten also die Sechserreihe mit 3-proz. Kochsalzbouillon und impften nach der Sterilisation jeden Nährboden mit einer Leuchtbakterien-Reinkultur. Nach 3 Tagen (20°) war leichte Trübung der Bouillon, resp. intensives Leuchten eingetreten. Es wurde nun die erste Kultur mit Putrificus geimpft und sofort nachher die ganze Reihe anaërob verschlossen. Anstatt sie nun sofort zu 37° zu stellen, ließen wir sie noch einige Tage bei 20°, bei welcher Temperatur die Leuchtbakterien auch unter anaërobem Verschluß *wohl* entwickelungs-, aber nicht mehr leuchtfähig sind. Erst nach Ablauf dieser Zeit stellten wir die Reihe zu 37°. Nun trat rasch im ersten Glas die intensive Putrificus-Trübung auf. Die Ueberimpfungen erfolgten von zwei zu zwei Tagen. Nach 2 Wochen ergab die makro- und mikroskopische Untersuchung der 6. Kultur wieder die gleichen Resultate wie diejenigen der früheren Sechserreihe mit Mesentericus als Sauerstoffabsorbent, d. h. durchweg typische vegetative und Dauerzustände des Putrificus.

In weiterer Verfolgung unseres Ziels gingen wir dazu über, zu untersuchen, ob die Entwickelung des Putrificus unter konstant absolut anaëroben Verhältnissen auch in einer möglichst langen Kulturreihe auftrete. Wir ließen zu diesem Zwecke eine dem Durchmesser des größten zur Verfügung stehenden Dampftopfes entsprechend lange Reihe von 16 Kulturgläsern herstellen. Diese befestigten wir auf einem Drahtkorb und sterilisierten sie fraktioniert im Dampftopf. Es ist dabei zu empfehlen, die Wattepfropfen der beiden ersten und letzten Gläser der Reihe mit Staniolpapier zu bedecken, da sie sonst leicht naß werden und dadurch einer Infektion Vorschub leisten könnten. Die Sterilisation, die Beschickung mit Nährboden, die Impfung mit dem sauerstoffabsorbierenden Mesentericus und mit dem zu prüfenden Anaëroben, wie auch der Verschluß der langen Reihe geschah im übrigen ganz gleich wie bei den kürzeren Reihen.

In einer ersten Sechzehnerreihe wurde Bac. putrificus geprüft.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die intensive Trübung war in jedem Gläschen in gleicher Weise zu konstatieren. Die mikroskopische Untersuchung der 16. Kultur ließ absolut keine involvierten, sondern nur typische, zum großen Teil bewegliche Formen erkennen. Mittelst Agarschüttelkulturen und -Stichen konnten beide Mikroorganismen leicht aus der 16. Kultur herausgezüchtet werden. Im Stich war die charakteristische, typische Wachstumsform des Putrificus sehr schön zu erkennen. Durch die sauerstoffabsorbierende Tätigkeit der auf der Oberfläche sich üppig entwickelnden Mesentericus-Decke war es dem Putrificus ermöglicht, bis zur Oberfläche zu wachsen, so daß ein ganz eigenartiges, auf den ersten Blick an die Wachstumserscheinung eines fakultativ Anaëroben erinnerndes Kulturbild entstand.

Dieselbe Sechzehnerreihe benutzten wir nach erfolgter vollständiger Sterilisierung für die Prüfung des Bac. tetani. Die Versuchsanordnung war ganz genau dieselbe wie bei der Putrificus-Reihe. Das Resultat der Untersuchung stimmte ebenfalls insofern mit dem ersterhaltenen überein, als auch bei dieser Reihe in jedem Glase eine intensive Trübung auftrat, die auf üppigstes Wachstum schließen ließ. Im Präparat aus der 16. Kultur waren keine Involutionsformen zu erkennen. Auffallen mußte, daß das Merkmal der sonst sehr scharf abgesetzten Köpfchenspore bei einzelnen Individuen der 16. Kultur nicht sehr ausgeprägt erschien, so daß man von Anklängen an Putrificus-Formen hätte sprechen können. Die sofort angelegten hohen Schichtkulturen in Burrischen Röhren überzeugten uns indessen von der Reinheit der anaëroben Kultur sowohl als auch vom Vorhandensein ausschließlich typischer Tetanus-Formen. Mesentericus trat in diesen Kontrollkulturen nur sehr kümmerlich als oberflächlicher Belag auf. Von einer Isolierung und vollständigen Charakterisierung der geprüften obligat Anaëroben nach der Passage durch die Kulturreihe haben wir vorerst abgesehen, da es uns bei diesen Versuchen mehr darauf ankam, die Möglichkeit der fortlaufend guten Entwickelung der obligat Anaëroben unter konstant absolut anaëroben Verhältnissen zu beweisen. Versuche in der erstgenannten Richtung hoffen wir früher oder später in ausgiebigem Maße durchführen zu können.

Die geöffnete Tetanus-Reihe wurde, selbstverständlich unter Beobachtung aller nötigen Vorsichtsmaßregeln, wieder gebrauchsfertig gemacht und an vier aufeinanderfolgenden Tagen je 30 Minuten im Dampftopf sterilisiert[1]).

Unterdessen war in einer aus 13 Gläsern bestehenden, genau wie früher behandelten Reihe eine Prüfung auf das Verhalten des unbeweglichen Buttersäurebacillus Schattenfroh und Grassberger eingeleitet worden. Von zwei zu zwei Tagen wurde je eine folgende Kultur geimpft und nach kurzer Zeit trat kräftige, nicht flockige Trübung auf, im letzten Glas mit derselben Intensität wie im ersten. Gasbildung war im Verlaufe nicht zu beobachten, auch war beim Oeffnen der Reihe, welches nach 4 Wochen erfolgte, kein Gasdruck zu bemerken. Beim Eintauchen der Platinöse in die 13. Kultur trat aber reichliche Gasbildung auf. Das mikroskopische Bild zeigte typische Stäbchen des unbeweglichen Buttersäurebacillus und Mesentericus-Sporen. Milchzuckeragarstichkulturen aus dem 13. Glase dienten als Kontrollen und

1) Es kann dabei vorkommen, daß ein Gläschen springt, wodurch die Reihe unbrauchbar wird. Ein einzelnes Gläschen kann aber von einem geübten Glasarbeiter leicht ersetzt und die Reihe dadurch wieder vervollständigt werden.

Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ließen die charakteristische Wachstumsform des unbeweglichen Buttersäurebacillus im Stich und des Mesentericus an der Oberfläche sehr deutlich erkennen. Die durch diese Reihe erhaltenen Resultate wurden durch eine später durchgeführte Sechzehnerreihe vollkommen bestätigt. Auch hier war absolut keine Verminderung der Wachstumsintensität zu erkennen. Ebensowenig konnten im Präparat involvierte Formen entdeckt werden. In den letzten 4 Gläschen konnte man beim Reiben der Platinöse an der Glaswand sehr deutliche Gasbildung erkennen (übersättigte Lösung von CO_2 ?). In den vorderen Gläsern trat diese Gasbildung nicht auf. Es ist nicht ausgeschlossen, daß hier das Gas nach und nach entwichen und von der überschüssigen Kalilauge des Pyrogallolpfropfes absorbiert worden ist. Die Kulturen mit und ohne Gasbildung zeigten amphotere Reaktion.

Auch den beweglichen Buttersäurebacillus Schattenfroh und Grassberger ließen wir eine Sechzehnerreihe passieren. Es trat in jedem der mit gewöhnlicher Bouillon geimpften Gläschen bald nach der von zwei zu zwei Tagen erfolgten Ueberimpfung schwache, aber deutliche, bedeutend intensivere als die durch Mesentericus verursachte Trübung auf. Man konnte sich über die durch den beweglichen Buttersäurebacillus hervorgerufene Trübung schon deswegen nicht täuschen, weil sich die mit Mesentericus geimpfte, schwach getrübte gewöhnliche Bouillon unter anaërobem Verschluß rasch vollständig klärt. In den einzelnen Kulturen der Reihe des beweglichen Buttersäurebacillus war schwache Gasbildung, beim Oeffnen der Gläser jedoch kein Gasdruck zu bemerken. Beim Einführen der Platinöse in das letzte Gläschen trat auch hier reichlich Gas auf. Zur Kontrolle impften wir mit einer großen Oese aus der 16. Kultur drei Milchzuckeragar hohe Schichten in Burrischen Röhren. Die Agarschicht wurde durch das entwickelte Gas zerrissen; die Kolonieen gingen wegen der durch Mesentericus gebildeten Decke bis gegen die Oberfläche; die Formen waren typisch. Diese Reihe blieb, nachdem das 16. Glas geöffnet, resp. nur mit dem sterilen Wattepfropf verschlossen war, also unter Luftzutritt, einige Tage bei Zimmertemperatur stehen. Dabei war folgendes zu beobachten: Durch den vom 16. Glas her eindringenden Sauerstoff waren alle früher schwach hellbraun gefärbten Pyrogallolpfropfen vollkommen schwarz geworden. Durch den zutretenden Sauerstoff war auch die Entwickelung des Bac. mesentericus wieder ermöglicht. Es trat denn auch in jeder Kultur nach und nach wieder eine Mesentericus-Haut auf; dabei war deutlich zu verfolgen, wie die Wachstumsintensität gegen die letzte Kultur, d. h. gegen die Stelle, wo der Sauerstoff sich zuerst bemerkbar machen mußte, zunahm.

Der Vollständigkeit halber wurde auch der von Herrn Prof. Dr. Burri aus „Sauerbrut" der Bienen gezüchtete „hyperanaërobe" Mikroorganismus in Verbindung mit Mesentericus in einer mit Dextrosebouillon beschickten Dreizehnerreihe geprüft. Wie zu erwarten war, trat auch bei dieser Versuchsreihe im letzten wie im ersten Glas dieselbe intensive Trübung auf.

Das gleiche war auch der Fall bei einer der eben erwähnten parallel gehenden Sechzehnerreihe ohne Mesentericus. Es war damit der Beweis erbracht, daß Bac. mesentericus nicht etwa irgend eine von den Sauerstoffverhältnissen unabhängige, fördernde Wirkung auf das Wachstum des „Hyperanaëroben" ausübte, sondern lediglich die Rolle eines Sauerstoffabsorbenten spielte. Diesem Befund steht ein ähnlicher,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bac. putrificus betreffend, zur Seite, den wir, ebenfalls ohne Mesentericus, eine mit gewöhnlicher Bouillon beschickte Dreizehnerreihe passieren ließen, ohne ein irgendwie gegen früher verändertes Resultat zu erhalten.

Um allen Einwänden, die gegen unsere Versuchsanordnung erhoben werden könnten, zu begegnen, entschlossen wir uns, eine Reihe herstellen zu lassen, deren einzelne Kulturgläser zugeschmolzen werden konnten. Zwar hatte sich der modifizierte Wrightsche Verschluß mit Kautschukstopfen ausgezeichnet bewährt. Wir haben dies bereits durch Versuche mit Leuchtbakterien bewiesen. Ferner geht dies auch aus der Tatsache hervor, daß bei den Verschlüssen der langen Reihe niemals der Fall eintrat, daß ein Pyrogallolpfropf eine sichtbare Dunkelfärbung zeigte, auch nicht in der obersten Partie, wo doch im Laufe der Zeit zutretende Sauerstoffspuren sich bemerkbar machen müßten. Es war also sicher anzunehmen, daß ein gut in die Mündung des Reagenzglases passender, an den Wandungen etwas befeuchteter Kautschukstopfen als sehr vollkommener Abschluß gelten konnte. Wir prüften den Verschluß auch noch dadurch, daß wir die mit Kautschukstopfen verschlossene Viererreihe, in der wir vorher Wasser kochten, 4 Wochen lang unter einer hohen Schicht konzentrierter Methylenblaulösung beließen. Es war nach Ablauf dieser Zeit absolut keine Färbung des in der Reihe enthaltenen Wassers zu erkennen, auch zwischen Pfropf und Glas war keine Farbe sichtbar. Weitaus am schärfsten hat sich aber auch hier die Leuchtbakterienmethode erwiesen. Mit ihrer Hilfe läßt sich zeigen, daß der Gummistopf tatsächlich in der ersten Zeit Spuren von Sauerstoff abgibt, daß aber nach deren Beseitigung oder Verbrauch nicht ein kontinuierlicher Ersatz, also kein Sauerstoffdurchtritt erfolgt.

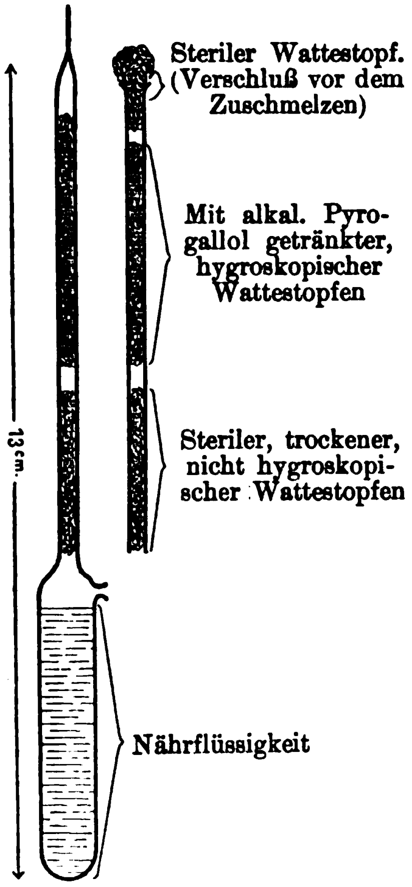


Fig. 6.

Unser anaërobes zugeschmolzenes Reihensystem wurde auf Grund einer einfachen Abänderung des oberen Teiles der Röhren der bisher benutzten Reihen hergestellt, wie Figur 6 zeigt. Wir beschickten also eine aus 16 im oberen Teile ausgezogenen Reagenzgläsern bestehende sterile Reihe mittelst langer steriler Kapillartrichter mit gewöhnlicher Bouillon und sterilisierten sie nun wie die anderen Reihen zur Sicherheit nochmals im Dampftopf. Sodann wurde jeder Nährboden mit Hilfe einer Mesentericus-Aufschwemmung geimpft und die Reihe abends zu 37° gestellt. Am folgenden Morgen impften wir Kultur 1 mit Putrificus und brauchten nun nur noch anaërob zu verschließen, resp. die einzelnen Gläschen zuzuschmelzen. Selbstverständlich war alles Nötige möglichst vorbereitet, so daß die Ausführung des Verschlusses wenig Zeit beanspruchte. Die sterilen Wattepfropfen wurden abgesengt, dann mittelst eines dünnen sterilen Glasstabes ziemlich weit

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ins Röhrchen hinabgestoßen und nun sofort ein möglichst langes Bäuschchen hygroskopischer Watte so ins Röhrchen gesetzt, daß es unten beinahe auf den sterilen Pfropf stieß, während die Mündung des Röhrchens mindestens 2 cm über den obersten Teil des hygroskopischen Wattepfropfs zu liegen kam. Nun wurden mittelst Pipette die letzteren Pfropfen mit je $^1/_2$ ccm Pyrogallussäure beschickt. Nachdem das geschehen war, brachte man in gleicher Weise $^1/_2$ ccm Kalilauge ins erste Gläschen und zog dieses unter beständiger Erhitzung (Stichflamme) mittelst einer Tiegelzange rasch aus. So wurde bei einiger Uebung, die man sich vorher an wertlosen Objekten aneignen konnte, ein Gläschen nach dem anderen mühelos zugeschmolzen.

Das Resultat dieser zugeschmolzenen Reihe stimmte mit den bei Anwendung des gewöhnlichen Verschlusses erhaltenen vollständig überein: Durchgehende intensive Trübung in allen Kulturen und typisches mikroskopisches Bild, das absolut keine involvierten Formen, nicht sehr viele Sporen, wohl aber üppiges, vegetatives Wachstum erkennen ließ. Eine zweite, mit Bac. tetani geimpfte zugeschmolzene Sechzehnerreihe bestätigte ebenfalls die früher konstatierten Tatsachen.

Wir brauchen kaum zu erwähnen, daß wir, gestützt auf diese Ergebnisse, bei späteren Versuchen wieder den einfachen, durchaus zweckmäßigen Wright-Burrischen Verschluß mit Kautschukstopfen in Anwendung brachten.

Anläßlich der Durchführung der Reihen des „Hyperanaëroben" hatten wir die Beobachtung gemacht, daß eine zufällige Infektion, die sich verhältnismäßig spät im 5. Glase der Reihe bemerkbar gemacht hatte, bei den weiteren Ueberimpfungen fortlaufend eine Trübung der Dextrosebouillon bewirkte, welche an Intensität diejenige der vier ersten Gläschen deutlich übertraf. Wir dachten an eine Putrificus-Spore, die etwa bei der Einführung des Mesentericus aus der Luft in das Gläschen gefallen sein konnte, waren aber nicht wenig erstaunt, einen typisch fakultativ anaëroben Coccus aus der letzten Kultur herauszuzüchten. Nachdem wir eine Reinkultur desselben erreicht hatten, gingen wir natürlich sofort daran, dieselbe in den Reihen zu prüfen. Es wurde von zwei Parallelreihen die eine mit gewöhnlicher, die andere mit Dextrosebouillon beschickt und Mesentericus eingeimpft. Die Weiterbehandlung geschah genau wie früher erwähnt. In der gewöhnlichen Bouillon trat zwar deutliche, aber viel weniger intensive Trübung auf, wie in der Dextrosebouillon. In beiden Reihen ging die Trübung ungeschwächt bis zur letzten Kultur. Die unverhältnismäßig stärkere Trübung der Dextrosebouillon ließ auf besondere Eignung des Zuckers als Nährstoff-, bezw. Kraftquelle für diesen Coccus schließen. Die schwache, wenn auch konstant in den einzelnen Röhren der Reihe bei Verwendung gewöhnlicher Bouillon auftretende Trübung läßt vermuten, daß die Entwickelung nur auf Grund der geringen in der Bouillon von Natur aus enthaltenen Zuckermenge möglich war und bei deren Fehlen ganz ausgeblieben wäre. Diese beiden Reihen mit dem fakultativ anaëroben, im Stichkanal sowohl als auch unter Luftzutritt, z. B. auf der Oberfläche der Strichkultur augenscheinlich ausgezeichnet wachsenden Coccus, lieferten das überraschende Resultat, daß sogar ein fakultativ anaërober Organismus unter konstant absolut anaëroben Verhältnissen seine normale Entwickelung durchlaufen kann.

Es war uns nun vor allem daran gelegen, diese wichtige Tatsache auch für das besonders typische, allgemein als fakultativ anaërob aner-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kannte Bact. coli (Escherich) L. et N. zu beweisen. Beijerinck (7) zählt dasselbe (l. c. p. 410) zu den aërophilen fakultativ Anaëroben, deren fortlaufende normale Entwickelung unter konstant anaëroben Verhältnissen er für vollständig ausgeschlossen hält. Wir isolierten Bact. coli aus Kuhkot und ließen es nun in Anwesenheit von Mesentericus eine Sechzehnerreihe passieren. Es trat in allen Kulturen sehr deutliche Trübung auf. Gasbildung war in den Kulturen (gewöhnliche Bouillon) nicht zu konstatieren. Das mikroskopische Präparat aus den letzten Röhrchen der Reihe zeigte typische Formen in charakteristischer Bewegung. Eine parallele, mit gewöhnlicher Bouillon beschickte Coli-Reihe ohne Mesentericus lieferte dasselbe Resultat.

Wir prüften ferner das Verhalten des sporenbildenden, typisch fakultativ anaëroben Hemicellulosenvergärers Bac. asterosporus (Arth. Meyer) Migula, der von P. Ankersmit (2) aus Rinderdarm isoliert wurde, in einer Dreizehnerreihe mit Dextrosebouillon. Es trat in jedem Glase sehr intensive Trübung auf. Gasbildung konnte im Verlaufe der Entwickelung nicht konstatiert werden. Beim Oeffnen der letzten Kultur der Reihe machte sich jedoch ein starker Gasdruck bemerkbar. Im mikroskopischen Bild der zweitletzten Kultur waren Sporen und sporentragende typische Formen sehr häufig. In der letzten (13.) Kultur herrschten vegetative Formen, oft mit deutlichen „Sporenvorstufen" und entsprechender Gestaltsveränderung der Stäbchen, vor. Dabei ist zu bemerken, daß vom Zeitpunkt der Impfung der letzten Kultur bis zur mikroskopischen Prüfung derselben nur 15 Stunden verstrichen waren.

Es dürfte durch diese Versuche die Tatsache erwiesen sein, daß sogar die fakultativen Anaëroben sich fortlaufend ohne freien Sauerstoff normal zu entwickeln vermögen. Um darzutun, daß dieses Vermögen den obligat Aëroben nicht zukommt, haben wir unsere diesbezüglichen Versuche auch auf den obligat aëroben Bac. mesentericus ausgedehnt. Es wurde eine Viererreihe mit gewöhnlicher Bouillon und eine Sechserreihe mit Dextrosebouillon beschickt, je das erste Glas geimpft und die Reihen dann 10 Stunden zu 37° gestellt. Sodann wurden sie anaërob verschlossen. Nachdem dies geschehen war, wurde sofort die zweite Kultur aus der ersten geimpft und die Reihen dann wieder zu 37° gestellt. Es konnte jedoch im zweiten Glas absolut kein Wachstum konstatiert werden. Der gleiche Versuch wurde wiederholt, mit dem Unterschied, daß wir die Mesentericus-Kultur im ersten Glas statt 10, 24 Stunden bei 37° beließen, so daß es zur Ausbildung einer üppigen Decke in der ersten Kultur kam. Sofort nachdem der anaërobe Verschluß angebracht war, wurde auch diesmal die zweite aus der ersten Kultur geimpft und die Reihen wieder zu 37° zurückgestellt. Es konnte auch diesmal im zweiten Glas jeder Reihe kein Wachstum beobachtet werden. Trotzdem impften wir weiter, so daß also alle Gläser der Reihen mit Sporen infiziert sein mußten. Diese Annahme bestätigte sich, als wir die Reihen öffneten. Tatsächlich bildete sich nachher in jedem Glas innerhalb 36 Stunden eine üppige Mesentericus-Haut. Dieser Befund liefert einen weiteren Beleg für die durch den Wright-Burrischen Verschluß allein erreichbaren vollkommen anaëroben Bedingungen, bei welchen den obligat Aëroben fortlaufend normale Entwickelung vollständig verunmöglicht wird.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Bevor wir auf eine Besprechung der Versuchsergebnisse des zweiten Teils unserer Arbeit eintreten, möchten wir nochmals auf die vorzüglichen Dienste hinweisen, welche uns die Leuchtbakterien zu verschiedenen Malen beim Nachweis des Sauerstoffs geleistet haben und diese Gelegenheit benützen, um noch einige auf diesem Gebiete liegende, bisher nicht berücksichtigte Versuche anzuführen.

Zunächst handelt es sich um die Bewertung des flüssigen Paraffins als Sauerstoffabschlußmittel. Anläßlich der Nachprüfung der Versuche von Fermi und Bassu haben wir mit Hilfe der Leuchtbakterienmethode den Nachweis geleistet, daß festes Paraffin als sauerstoffabschließendes Mittel absolut ungeeignet ist, indem es in ausgeprägtem Maße die Eigenschaften eines sauerstoffspeichernden Stoffes besitzt. Da zu vermuten war, daß das als Sauerstoffabschlußmittel sehr beliebte flüssige Paraffin sich nicht anders verhalten würde, haben wir einige diesbezügliche Versuche ausgeführt, wobei wiederum die Leuchtbakterien als Reagens auf freien Sauerstoff dienen mußten. Ueberschichtet man eine intensiv leuchtende Kultur von Bact. phosphoreum mit flüssigem Paraffin, so macht man die Beobachtung, daß die Kultur überhaupt nicht aufhört zu leuchten. Dies läßt darauf schließen, daß das flüssige Paraffin nicht nur mit einem gewissen Quantum Sauerstoff beladen zur Verwendung gelangt, sondern daß es auch für Sauerstoff durchlässig ist. Daß dies tatsächlich der Fall ist, beweist folgender Versuch: Eine junge, intensiv leuchtende Kultur wird mit flüssigem Paraffin überschichtet und dann sofort anaërob verschlossen. Daneben wird eine nicht überschichtete, ganz gleich intensiv leuchtende Kultur ebenfalls anaërob verschlossen. Bei letzterer ist nach Ablauf von 2 Stunden jedes Leuchten verschwunden. Bei ersterer hingegen ist zu dieser Zeit an der Berührungsstelle von Paraffin und Kultur noch ein intensives Leuchten vorhanden, und sogar nach 3 Tagen ist das Leuchten, wenn man Kultur und Paraffin etwas durcheinander schüttelt, noch deutlich. Am 4. Tage erst kann man auch bei starkem Schütteln kein Leuchten konstatieren. Die im Paraffin gespeicherten Sauerstoffmengen müssen also nach Ablauf dieser Zeit vom Pyrogallolpfropf einerseits und von der Kultur andererseits absorbiert worden sein. Oeffnet man nun die überschichtete, anaërob verschlossene Kultur, so tritt nach kurzer Zeit wieder sehr deutliches Leuchten auf, der untrüglichste Beweis für die Sauerstoffdurchlässigkeit des flüssigen Paraffins.

Die Tatsachen der Sauerstoffspeicherung und der Sauerstoffdurchlässigkeit des flüssigen Paraffins lassen sich auch sehr schön beweisen, indem man den längeren Schenkel unseres zweiteiligen Zuchtrohres mit einer leuchtenden Kultur, den kürzeren mit flüssigem Paraffin beschickt und sodann beide anaërob verschließt. Läßt man nun nach 2 Stunden, nachdem infolge der Sauerstoffabsorption das Leuchten der Kultur verschwunden ist, das flüssige Paraffin durch Neigen des Glases auf die entleuchtete Kultur fließen, so tritt fast plötzlich das Leuchten wieder auf. Wenn die Kultur und das Paraffin 4 Tage unter anaërobem Verschluß gestanden haben, so ist beim Zusammentreten der beiden Medien kein Leuchten zu erkennen, während es nach 2 Tagen noch unfehlbar konstatiert werden kann. Oeffnet man nun aber ein 4 Tage lang anaërob verschlossenes zweiteiliges Zuchtrohr, in dem durch Vereinigung des Paraffins mit der Kultur kein Leuchten mehr aufgetreten ist, so tritt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Erscheinung entsprechend der schon erwähnten Sauerstoffdurchlässigkeit des flüssigen Paraffins nach kurzer Zeit wieder auf.

Daß flüssiges Paraffin für Sauerstoff durchlässig ist, haben auch Schattenfroh und Grassberger (145) konstatiert. Sie schreiben anläßlich der Besprechung des flüssigen Verschlusses ihres modifizierten Botkinschen Verfahrens: „Außen verhindert letztere (die Pyrogallollösung), daß Luft durch das Paraffin ins Innere der Glocke diffundiert, was durch den Paraffinverschluß allein (Botkin) nicht erreicht werden kann, wie man bei unserer Versuchsanordnung ohne weiteres erkennt, indem die der Paraffinschicht zunächst gelegene Zone in der Pyrogallollösung sich später ziemlich rasch intensiv dunkel färbt."

Stüler (142) hat die Möglichkeit der Sauerstoffdurchlässigkeit des flüssigen Paraffins bei Besprechung seiner „Auskochmethode mit Sauerstoffventil" nachträglich kurz berücksichtigt, indem er schreibt: „Es ist die Frage, ob die den Nährboden bedeckende Sperrflüssigkeit, das Paraffinum liquidum, absolut sauerstofffrei bleiben wird. Es wäre immerhin denkbar, daß diese an sich sauerstofffreie Flüssigkeit dennoch geringen Spuren von Sauerstoff Durchtritt gestattete." Auf Grund des Ergebnisses unserer Versuche muß diese Stülersche Methode als mangelhaft bezeichnet werden, nicht nur deswegen, weil das flüssige Paraffin tatsächlich dem Sauerstoff den Durchtritt gestattet, sondern besonders aus dem Grunde, weil eben das flüssige Paraffin eine an sich nicht sauerstofffreie Flüssigkeit repräsentiert.

Da wir mit Hilfe der Leuchtbakterienmethode nachgewiesen haben, daß Kautschuk, ähnlich wie Paraffin, Sauerstoffspuren abzugeben im stande ist, so könnte man geneigt sein, gestützt auf diese Tatsache, auch die Zuverlässigkeit der von uns im ersten Teil der Arbeit empfohlenen Arbeitsmethoden anzuzweifeln. Eine Berechtigung hierzu liegt jedoch nach unserem Erachten nicht vor, wie die folgenden Ausführungen zeigen mögen.

Beim Wrightschen Verschluß, der bei den Reihenimpfungen unter beständiger Anaërobiose eine so wichtige Rolle spielte, sitzt der Kautschukstopfen direkt auf dem mit alkalischem Pyrogallol getränkten Wattepfropf, und es ist nicht einzusehen, wie die von ersterem abgegebenen Sauerstoffspuren der Absorption durch die in unmittelbarer Nähe befindliche, naßfeuchte, begierig sauerstoffanziehende Watteschicht entgehen könnten. Wenn auch zugegeben werden soll, daß die am Kautschuk haftenden Sauerstoffmengen nur nach und nach abgegeben werden und der Vorrat zu einer Zeit, zu welcher der Nährboden bereits sauerstofffrei ist, vielleicht noch nicht erschöpft ist, so ändert das nichts an der Bedeutung dieses Sauerstoffes für die Entwickelung der Kultur, denn die letztere wird nicht berührt durch den zeitlichen Verlauf jener Sauerstoffwanderung; wesentlich ist für sie, daß der Pyrogallolwattepfropf ein absolut sauerstoffdichtes Filter bildet.

In der Burrischen Röhre stößt der abschließende Kautschukstopfen allerdings direkt an das Nährsubstrat, aber wir haben die Burrische Röhre nicht für Versuche bezüglich absoluter Anaërobiose empfohlen. Im Gegenteil, es ist, wie wir bereits andernorts darstellten, gerade ein Hauptvorzug des Burrischen Verfahrens zur Isolierung Anaërober, daß es dem Mikroorganismus Gelegenheit gibt, Sauerstoffspannungen aller möglichen Abstufungen zu treffen. Damit ist schon gesagt, daß die Nährbodenschicht in der Burrischen Röhre auch Bezirke von jenem geringsten Sauerstoffgehalt aufweist, der den obligat Anaëroben überhaupt

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erlaubt, sich zu entwickeln. Diese Entwickelung erfolgt tatsächlich ausgezeichnet in der Agarsäule, wenn auch selbstverständlich nicht durch die ganze Höhe derselben. Die Entwickelung der Kolonieen findet ca. 1 cm von der Oberfläche entfernt ihren Abschluß und zwar bemerkenswerterweise mit einer Zone verstärkten Wachstums. Eine ähnliche, weniger ausgesprochene Zone verstärkten Wachstums befindet sich, wie wir dies auf unserer Abbildung (p. 22) angedeutet haben, auch unten in unmittelbarer Nähe des abschließenden Kautschukpfropfens. Wie wir die obere Zone mit dem frei zutretenden Sauerstoff in Beziehung bringen möchten, so glauben wir, dasselbe auch bei der unteren Zone tun zu dürfen, indem der hier in Betracht kommende Sauerstoff auch mittelst der Leuchtbakterien direkt nachgewiesen werden kann. Impfen wir nämlich 10 ccm sterile Kochsalzbouillon in einer unten mit Kautschukstopfen verschlossenen Burrischen Röhre mit einer Leuchtbakterienreinkultur, so tritt nach 2 Tagen intensives Leuchten auf und zwar, wenn die Kultur nicht geschüttelt wird, nur an zwei Stellen: Oben, unter dem direkten Luftzutritt und unten, unmittelbar über dem Kautschukstopfen. An letzterer Stelle hört jedoch das Leuchten nach relativ kurzer Zeit auf, und es läßt sich auch absolut kein Leuchten zwischen Kautschukstopfen und Glaswand konstatieren. Diese Erscheinungen lassen sich nur so erklären, daß der Kautschukstopfen zwar im stande ist, geringste Sauerstoffmengen abzugeben, jedoch keinen mit Leuchtbakterien nachweisbaren Sauerstoff durchzulassen, gute, der Glaswand überall gleichmäßig fest anliegende Stopfen natürlich vorausgesetzt. Dieser Befund ist von Wichtigkeit, denn er markiert den Unterschied zwischen den Sauerstoffabschlußmitteln Kautschuk einerseits und Paraffin andererseits. Beide Stoffe sind in gewissem Sinne Sauerstoffträger und geben an sauerstofffreie Räume und Flüssigkeiten Sauerstoff ab. Während aber durch eine feste oder flüssige Paraffinsäule unter den geschilderten Versuchsbedingungen ein kontinuierlicher Sauerstoffstrom wandert, kann ein solcher bei einem Kautschukstopfen unter gleichen Verhältnissen nicht nachgewiesen werden.

Die aus den Versuchsergebnissen des II. Teils zu ziehenden Konsequenzen betreffen sowohl die Untersuchungstechnik der Anaëroben als auch die Theorie der Anaërobiose überhaupt. Bezüglich der Untersuchungstechnik wäre in erster Linie hervorzuheben, daß der Sauerstoff niemals zu vollständig entfernt werden kann, in dem Sinne, daß durch die allzu weitgehende Sauerstoffabsorption die Entwickelung der Anaëroben verunmöglicht würde. Diese von Fermi und Bassu u. A. vertretene Ansicht beruht auf Irrtum.

In zweiter Linie haben unsere Bemühungen für Schaffung wirklich anaërober Verhältnisse zu dem Ergebnisse geführt, daß die Erreichung des genannten Zieles ohne besondere Schwierigkeiten möglich ist. Unser zwei- und mehrteiliges anaërobes Kulturgefäß gestattet eine einwandfreie, vom Luftsauerstoff völlig unberührte Ueberimpfung der Keime in einen absolut sauerstofffreien Nährboden. Ein solcher wird erzielt, indem man z. B. Nährbouillon eine genügend lange Zeit der Wirkung des darüber befindlichen Anaërobenverschlusses nach Wright aussetzt (bei 10° C ca. 4 Tage) oder in wenigen Stunden nach Montierung des Verschlusses bei vorheriger Einimpfung aërober Organismen. Die Kontrolle der Sauerstoffabwesenheit unter den genannten Verhältnissen geschah immer mit Hilfe der Leuchtbakterienmethode. Es braucht wohl kaum besonders erwähnt zu werden, daß die angedeuteten Maßnahmen zur Erzielung

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer absoluten Anaërobiose für die gewöhnlichen Zwecke der Anaërobenzüchtung nicht notwendig sind, denn es ist eine Erfahrungstatsache, daß Entwickelung von Anaëroben unter Verhältnissen zu erzielen ist, wo völlige Sauerstoffabwesenheit ganz sicher nicht vorhanden ist, und die Versuche von Chudiakow (24) u. A. haben den direkten Beweis erbracht, daß die Entwickelung der sogenannten streng Anaëroben ungestört vor sich geht, wenn nur der Gehalt des Nährmediums an Sauerstoff ein gewisses Minimum nicht überschreitet.

Wenn es also nach dem Gesagten im allgemeinen keinen Sinn hat, bei Züchtung der Anaëroben ängstlich für die Entfernung der letzten Spuren von Sauerstoff besorgt zu sein und auf Grund der geschilderten Verhältnisse der Experimentator vielmehr in der angenehmen Lage ist, mit einem gewissen Spielraum bezüglich des Sauerstoffminimums, anstatt mit einer scharfen Grenze rechnen zu dürfen, so verändert sich die Sachlage plötzlich, wenn etwa die Frage beantwortet werden soll, welche bestimmte Sauerstoffmenge z. B. die Entwickelung dieser oder jener Bakterienart, oder die Aeußerung einer einzelnen Funktion derselben noch erlaubt. Es ist, wie schon bemerkt, relativ leicht, eine Bakterienart auf einwandfreiem Wege in völlig sauerstofffreie Verhältnisse zu versetzen. Es muß aber als sehr schwierig, wenn nicht als unmöglich bezeichnet werden, einer Bakterienart in dem ihr zur Verfügung gestellten Nährboden eine beliebige bestimmte Menge ungebundenen Sauerstoffes zu bieten. Unsere p. 99 angeführten Versuche haben deutlich gezeigt, daß aus der Sauerstofffreiheit des Kulturraumes nicht auf die Sauerstofffreiheit des Nährbodens geschlossen werden darf, sondern daß der letztere je nach Zusammensetzung, Schichthöhe u. s. w. noch beträchtliche Sauerstoffmengen enthalten kann, wenn im ersteren mit Hilfe der Leuchtbakterien keine Spuren mehr nachzuweisen sind. Die an jener Stelle beigebrachten Tatsachen fordern dazu auf, allen Angaben über bestimmte Sauerstoffdrucke, die mit irgendwelchen Lebensäußerungen der ihnen ausgesetzten Bakterien in Beziehung gesetzt werden, skeptisch zu begegnen. Denn wie einem absoluten Vakuum im Raum über einem beliebigen Bakteriennährboden nicht auch absolute Sauerstoffabwesenheit des letzteren zu entsprechen braucht, so wird auch einem bestimmten, am Vakuummeter ermittelten Sanerstoffdruck des Kulturraumes nicht derselbe Druck im Nährboden entsprechen. Es wird sich je nach den Verhältnissen nach verschieden langer Zeit ein Gleichgewichtszustand einstellen, der aber von verschiedenen, schwer kontrollierbaren Einflüssen, nicht zum mindesten von der sauerstoffabsorbierenden Tätigkeit der auf dem Nährboden befindlichen lebenden Kultur selbst abhängt. Diese Tatsachen und Ueberlegungen scheinen uns in der jüngst erschienenen Arbeit von Martin Wund (160) nicht genügend berücksichtigt worden zu sein. Wund will u. a. das Minimum der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung einer Reihe in Luft ihren ganzen Entwickelungsgang durchführender, sporenbildender Bakterienspecies feststellen. Er schreibt (l. c. p. 292): „Sollte nun das Minimum von einigen der Species bestimmt werden, so wurden eine Anzahl der Agarröhrchen mit den Sporen der Species geimpft und in der Regel je ein Röhrchen für jede Species in das Kulturvakuum gestellt. Ungefähr nach je 2—3 Tagen wurde das Kulturvakuum geöffnet und wurden die Agarröhrchen sämtlich auf das Verhalten der Morphoden der Species stets mikroskopisch untersucht.“

(Schluß folgt.)

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres.

V. Bacillus flavus. VI. Bacillus cerevisiae.

[Aus dem botanischen Institut der Technischen Hochschule Graz (Vorstand: Prof. Friedrich Reinitzer).]

Von Dr. **Franz Fuhrmann,**

Privatdozent an der Technischen Hochschule und Universität zu Graz.

Mit 1 Tafel, 2 Kurven und 1 Textfigur.

(Schluß.)

Aus Tabelle II ist zu entnehmen, daß Bacillus flavus auch aus einfach zusammengesetzten Stickstoffquellen den Stickstoff zu entnehmen vermag, wenn gleichzeitig gewisse Kohlenhydrate dargereicht werden. Das beste Wachstum erkennen wir in den Röhrchen, die Asparagin als N-Quelle und Glycerin als C-Quelle enthalten. Das gilt besonders nach einer Beobachtungsdauer von 5 Tagen. Nach 48 Stunden gewahrt man allerdings in den Röhrchen mit Asparagin und Dextrose (No. 1), Saccharose (No. 2) bezw. Glycerin (No. 4) optimales Wachstum. Laktose (No. 3) scheint nur schwierig gespalten zu werden und kann die drei anderen Kohlenstoffquellen nicht annähernd ersetzen. Dextrose und Saccharose werden anscheinend verhältnismäßig leicht aufgespalten und gerade dieser Umstand dürfte einer besonders reichlichen Vermehrung hinderlich sein, da die dabei entstehenden Säuren unserem Mikroben das Wachstum unmöglich machen. In dem Röhrchen mit Asparagin und Glycerin können wir nach 5-tägigem Wachstum nur Spuren von Säure nachweisen. Es dürfte also nicht viel mehr aufgespalten werden, als eben zur Ernährung verbraucht wird. Auch Ammoniumtartrat und Ammoniumlaktat in Verbindung mit Dextrose, Saccharose, Laktose und Glycerin als besondere C-Quellen dienen unserer Bakterienart als brauchbare Stickstoffquellen. Auch hier fällt wieder auf, daß gerade Glycerin die beste C-Quelle abgibt, während in den Röhrchen mit Laktose nur eine geringe Vermehrung zu verzeichnen ist. Nur bei der Darreichung von Glycerin kommt es hier zur Bildung einer wenn auch zarten Kahmhaut (vergl. No. 8 u. 12). Chlorammonium in Verbindung mit den genannte Kohlenstoffquellen enthaltenden Nährlösungen sind für Bacillus flavus verhältnismäßig schlechte Nährsubstrate. Wachstum ist nur in den Röhrchen mit Chlorammonium — Dextrose (No. 13) und Chlorammonium — Glycerin (No. 16) festzustellen. In den Lösungen mit Chlorammonium — Saccharose bezw. Chlorammonium — Laktose fand überhaupt keine Vermehrung der eingesäten Bakterien statt. Etwas besseres Wachstum können wir bei der Darreichung von Kaliumnitrat in Verbindung mit Dextrose, Laktose, Saccharose und Glycerin beobachten (vergl. No. 17—20). Das beste Wachstum zeigt sich in diesen Fällen bei Kaliumnitrat — Glyceringehalt der Nährlösung. Jedoch kommt es hier nicht mehr zur Bildung einer Kahmhaut. Fast gar keine Vermehrung bemerkt man in den Röhrchen mit Kaliumnitrat — Laktose. Bei sämtlichen 4 letztgenannten Versuchen konnten aber beträchtliche Mengen von Nitrit nach 5-tägigem Wachstum fest-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gestellt werden (in No. 19 entsprechend dem minimalen Wachstum nur Spuren).

Bezüglich des Verhaltens unserer Bakterienart in Bier und ihrer Resistenz gegen höhere Temperaturen wird im Zusammenhange mit den bereits beschriebenen Bakterienarten aus Flaschenbier gesondert berichtet werden.

VI. Bacillus cerevisiae.

Diese Gelatine nicht peptonisierende Bakterienart wurde aus einem Flaschenbiere einer hiesigen Brauerei isoliert, dessen Alkoholgehalt 4 Gewichtsprozente betrug. Das Bier war vollständig klar, zeigte nicht den geringsten Bodensatz und hatte einen konsistenten Schaum. Die Flasche war mit einem einwandsfreien tadellosen Korkstopfen verschlossen. Diese Bierprobe enthielt im Kubikzentimeter durchschnittlich 619 Bakterien. Schimmelpilze und Hefezellen konnten in größeren Mengen darin nicht nachgewiesen werden. Unsere Bakterienart nähert sich in vielen biologischen und morphologischen Merkmalen der großen Gruppe „Bacillus coli", unterscheidet sich aber doch von ihr in wichtigen Merkmalen, weshalb ich nicht anstehe, sie als Bacillus cerevisiae zu bezeichnen und ihre morphologischen und kulturellen Merkmale eingehender im folgenden zu behandeln. Der Name Bacillus gebührt ihr entsprechend der Begeißelung und als nähere Bezeichnung cerevisiae entsprechend der Fundstätte. Es sei hier nebenbei bemerkt, daß ich aus Grazer Wasserleitungswasser eine fast gleiche Bakterienart reinzüchtete, die von Bacillus cerevisiae kaum unterschieden werden kann. Dies sagt nur aus, daß Bacillus cerevisiae keine für Bier sozusagen typische Bakterienart ist, vielmehr eine Wasserbakterie, die eben gelegentlich der Flaschenreinigung auch in dieses Substrat hineingelangt und sich dort durch längere Zeit trotz des Alkoholgehaltes lebend erhalten kann. Inwiefern sie die Qualität des Bieres zu beeinträchtigen vermag, wird in einer gesonderten Mitteilung über die Wirkung der aus Bier isolierten Mikroben auf dieses dargetan werden.

Wachstum auf festen Nährsubstraten.

Bacillus cerevisiae wächst auf der neutralen Gelatineplatte bei 20° C nur sehr langsam. An der Oberfläche bemerkt man nach 48-stündigem Wachstum 1—2 mm im Durchmesser betragende runde, milchweiße Auflagerungen von mäßiger Dicke. Untersucht man eine solche Oberflächenkolonie bei schwacher Vergrößerung, so sieht man an der zarten Auflagerung eine feinhöckerige Oberflächenstruktur. Die Mitte der Kolonie zeigt eine kegelförmige, ziemlich spitze Erhebung. Der Rand der Auflagerung besitzt mehrere gröbere Einbuchtungen und eine feine Kerbung. Die ganze Konfiguration, die in Fig. 1 der Tafel gut zu sehen ist, erinnert an das Aussehen der Gelatineoberflächenkolonieen von Bacillus coli. Doch bei direktem Vergleich der beiden Kolonieformen nimmt man doch einige Unterschiede wahr. Nach 48 Stunden sind wenigstens von meinen Coli-Stämmen die Auflagerungen größer und derber. Die Kolonieen sind mehr blattförmig und lassen die feine Kerbung des Randes weniger hervortreten. Auch die Oberfläche derselben zeigt nicht die ziemlich gleichmäßige, feine Körne-

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lung, die die Auflagerungen von Bacillus cerevisiae immer aufweisen. Es sei noch ausdrücklich hervorgehoben, daß bei den Vergleichsversuchen beide Bakterienarten, Bacillus coli und Bacillus cerevisiae, unter genau gleichen Bedingungen und auf identischen Nährsubstraten gezüchtet wurden.

Die in der Tiefe der Gelatineplatte angegangenen Kolonieen von Bacillus cerevisiae messen nach 48 Stunden 0,1—0,2 mm im größeren Durchmesser. Es sind scheibchenförmige Gebilde, die vollständig scharf begrenzt sind und keine Ausläufer in das umgebende Substrat aussenden. Von der Fläche gesehen, sind die Scheibchen meistens kreisrund, mitunter oval. Ihre Farbe ist im auffallenden Lichte gelbweiß, im durchfallenden milchweiß. Im Innern besitzen sie eine körnige Struktur.

Im gefärbten Ausstrichpräparate von jungen Kolonieen gewahrt man kurze, ziemlich plumpe Stäbchen, die, mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbt, eine homogene Tinktion aufweisen. Ihre Länge mißt 1—1,5 μ, ihre Breite im Mittel 0,6 μ. An den längeren Stäbchen, die niemals zu Ketten vereint sind, kann man eine Differenzierung insofern erkennen, als sich dieselben dadurch als Doppelstäbchen zu erkennen geben, daß ihre Mitte von einem nur schwach gefärbten Streifen durchzogen erscheint. Hier und da kann man auch Andeutungen einer polar liegenden, stärker färbbaren Substanz wahrnehmen. Die Enden der Stäbchen sind abgerundet (vergl. Fig. 3 der Tafel).

Die Gelatinestrichkultur, mit Bacillus cerevisiae angelegt, läßt nun folgende Eigentümlichkeiten wahrnehmen: Längs des Impfstriches bildet sich innerhalb von 48 Stunden bei 20° C ein schmaler, durchscheinender und nur spurweise gelbweiß gefärbter Kulturstreifen. Die Ränder dieses Rasens sind zart gebuchtet. Die Auflagerung selbst ist dünn und von glänzender Oberfläche. Allmählich breitet sich die Auflagerung aus, bedeckt aber selbst nach Wochen nur ungefähr die Hälfte der Nährbodenoberfläche. Schon nach 3—4-tägigem Wachstum ist der Kulturrasen dicker geworden und nimmt eine rein milchweiße Farbe an, die so stark ist, daß, im auffallenden Lichte betrachtet, der Nährboden auch nicht mehr durchschimmert. Der Rand zeigt die bei der Oberflächenkoloniebeschreibung bereits erwähnte feine Zähnung. Aeltere Kulturen zeigen eine leichte Querfaltenbildung in der Auflagerung. Eine Verflüssigung oder Verfärbung des Nährsubstrates ist selbst nach monatelanger Züchtung nicht zu bemerken.

In der Gelatinestichkultur, ausgeführt mit unserer Bakterienart in traubenzuckerhaltiger, neutraler Gelatine, beobachten wir sowohl an der Oberfläche als auch in der Tiefe Wachstum. Um den Impfstich bildet sich die bereits charakterisierte, weiße Auflagerung, während im Impfstich erst nach mehreren Tagen deutliches Wachstum zu bemerken ist. Schon nach 24 Stunden ist der Nährboden von massenhaften Gasblasen zerklüftet.

Bedeutend besser als auf Gelatine wächst Bacillus cerevisiae auf neutralem Nähragar bei einer Temperatur von 32° C. Die auf schief erstarrtem Agar angelegte und 24 Stunden bei 32° C gehaltene Kultur läßt einen ziemlich derben, milchig getrübten Belag auf der ganzen Agaroberfläche erkennen, sofern man frischen Agar benützt. Die Auflagerung ist der von Bacillus coli auf diesem Nährsubstrat gebildeten sehr ähnlich, unterscheidet sich bei näherem Zusehen jedoch ziemlich leicht durch ihre reinweiße Farbe, während Coli-Bacillen eine

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

solche von gelbweißer Farbe bilden. Außerdem ist der Kulturrasen von Bacillus cerevisiae auch derber. Das Kondenswasser ist vollständig getrübt und enthält einen reinweißen, beträchtlichen Bodensatz. Außerdem fällt die bedeutende Gasbildung auf. In der Folge verdickt sich der Belag noch mehr, wodurch die weiße Farbe desselben immer besser zum Ausdruck gelangt.

Mehrere Versuchsreihen ergaben als Temperaturoptimum für Bacillus cerevisiae 30—33° C. Starke Vermehrung findet aber auch noch bei 37° und 28° C statt. Unter und über diesen Temperaturen ist das Wachstum jedoch sehr langsam und wird bei 41° C vollständig unterdrückt, wenn auch die Bakterien selbst nach mehrtägigem Aufenthalt in dieser Temperatur nicht abgetötet werden.

Untersucht man nun eine 24-stündige, bei 22—33° C gewachsene Agarkultur unseres Bakteriums lebend im hängenden Tropfen, so gewahrt man sehr lebhaft bewegliche Kurzstäbchen, an denen im ungefärbten Zustande keine Differenzierung des Plasmas festzustellen ist. Kettenformen fehlen. Die Bewegung der einzelnen Stäbchen gleicht einem Hinschießen in geradlinigen Bahnen. Das gefärbte Ausstrichpräparat zeigt etwas kürzere Stäbchen, deren Inhalt eine homogene Färbung aufweist, einerlei mit welcher gebräuchlichen Anilinfarbe gefärbt wurde. In Fig. 5 der Tafel sind Stäbchen aus einer jungen, bei 22° C gewachsenen Agarkultur nach Karbolfuchsintinktion im Photogramm wiedergegeben. Vergleicht man die in Fig. 3 abgebildeten Stäbchen von Bacillus cerevisiae bei dessen Zucht auf Gelatine, so entnimmt man ohne weiteres, daß die auf Agar gewachsenen Stäbchen kürzer und schlanker sind (Fig. 5). Differenzierungen des Zellinhaltes sind nicht zu erkennen.

Fertigt man von einer 24-stündigen, bei 22—28° C gewachsenen Agarkultur unseres Bakteriums ein Geißelpräparat an, so zeigt jedes Stäbchen eine größere Anzahl von meistens leicht geschwungenen, langen Bewegungsorganen, die um die Zelle peritrich angeordnet sind. An besonders gut tingierten, einzeln liegenden Stäbchen ist eine Zählung der Geißelfäden leicht möglich und ergibt 5—8 Geißelfäden. Wo mehrere Bakterien nebeneinander liegen, sind sie in ein Gewirr von Geißeln eingeschlossen (vergl. Fig. 4 der Tafel).

Züchtet man nun Bacillus cerevisiae in Temperaturen über dem Optimum, beispielsweise bei 36° C, so erkennt man schon bei der Untersuchung im hängenden Tropfen neben den kurzen Formen zahlreiche Fadengebilde von sehr großer Länge. Die Kurzstäbchen sind noch gut beweglich. Die langen Fäden, an denen keine Gliederung mehr festzustellen ist, sind bewegungslos, während die kürzeren Fäden noch eine Eigenbewegung besitzen. In den Langfäden ist auch schon im ungefärbten Zustande eine Differenzierung im Plasma zu erkennen, die durch Färbungen mit Methylenblau noch deutlicher wird. Im allgemeinen findet eine Scheidung in zwei Substanzen statt, wovon die eine sich intensiv tingiert, während die andere nur schwache Färbung bei gleicher Färbedauer aufweist. Die erstgenannte Substanz sammelt sich in verschiedenen Teilen des keine Scheidewände mehr aufweisenden Fadens. Die Dicke der Fäden ist nicht überall gleich und es finden sich im Verlauf eines Fadens zahlreiche schwache Einschnürungen und Auftreibungen. Fig. 2 der Tafel gibt diese Verhältnisse wieder. Da eine eingehende Beschreibung aller dieser Veränderungen anläßlich der Publikation meiner Untersuchungen über die Entwickelungskreise dieser

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterien folgt, begnüge ich mich hier mit diesen wenigen Andeutungen. Die Fadenbildungen sind hier eben deshalb besonders erwähnt, da bei Bacillus coli, der sonst meiner Bakterienart in vielen Punkten nahesteht, niemals etwas ähnliches zu finden war. Die mir zur Verfügung stehenden Stämme der großen Coli-Gruppe zeigten bei der Zucht auf neutralem Nähragar in 36 ° C durch 24 Stunden niemals derartige Fadenbildungen und Plasmadifferenzierungen. Da das Auftreten von Fadenbildungen sehr konstant auch unter anderen Bedingungen erfolgt, die bei Bacillus coli nicht derartige Phänomene auslösen, so glaube ich vollständig berechtigt zu sein, gerade auf dieses entwickelungsgeschichtliche Merkmal ein Hauptgewicht für die Trennung meiner Bakterienart von der Coli-Gruppe legen zu dürfen. Inwiefern wir berechtigt sind, hier von Entwickelungsmerkmalen zu sprechen, kann in diesem Rahmen nicht näher erörtert werden, und soll eine eingehende Behandlung in der oben zitierten Veröffentlichung finden.

Wenn wir Strichkulturen mit unserer Bakterienart in gut ausgekochtem Agar anlegen und entweder in der Buchner-Röhre unter Ausschluß des Luftsauerstoffes züchten oder in der reinen Wasserstoffatmosphäre kultivieren, findet das Wachstum langsamer statt. Unsere Bakterienart ist also ein fakultativer Anaërobiont.

Auf der sterilisierten Kartoffelscheibe gedeiht unsere Bakterienart beim Temperaturoptimum gut. Nach 24 Stunden beobachtet man längs des Impfstriches einen schmalen, gelblichweißen, feuchtglänzenden Belag, der sich in der Folge verbreitert und etwas nachdunkelt. Besondere Wuchsformen sind hier nicht hervorzuheben. Sporenbildung konnte weder auf der Kartoffel noch auf einem anderen Nährboden beobachtet werden, selbst wenn man die Kulturen durch Wochen und Monate sich selbst überlassen stehen ließ. Es entstehen dabei nur widerstandsfähigere Formen, auf die hier nicht besonders eingegangen werden soll.

Auch auf der Scheibe von gekochtem Hühnerei wächst Bacillus cerevisiae gut. Nach 24 Stunden bei der Zucht im Temperaturoptimum ist ein schwach gelbweißer Belag längs des Impfstriches auf dem Weißen zu sehen. Nach einigen Tagen ist die ganze Oberfläche von demselben bedeckt. An dem Nährsubstrat selbst spielen sich keine augenfälligen Veränderungen ab, wie etwa Verflüssigung oder Klärung des Weißen oder Gelben. Züchtet man über dem Temperaturoptimum, beispielsweise bei 36 ° C, dann stellt sich schon in kurzer Zeit ausgiebige Fadenbildung ein und es entstehen Zellformen, wie ich sie bereits für die bei hohen Temperaturen gezüchtete Agarkultur beschrieb.

Wachstum in flüssigen Nährsubstraten.

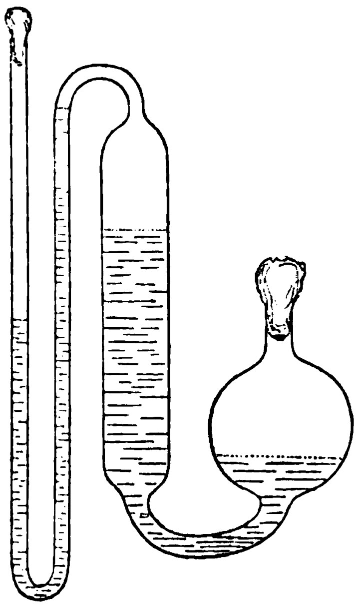
Für Bacillus cerevisiae ist neutrale, traubenzuckerhaltige Nährbouillon ein ausgezeichneter Nährboden. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brütschrank bei 32—34 ° C bemerkt man eine sehr starke allgemeine Trübung der Flüssigkeit und einen ansehnlichen weißen Bodensatz. Letzterer läßt sich in der Flüssigkeit ohne Schwierigkeiten durch Schütteln verteilen, wobei Aufschäumen eintritt. Nach 3—4-tägigem Wachstum bemerkt man eine dünne, beim Schütteln leicht in Fetzen zerreißliche Kahmhaut. Indol oder Schwefelwasserstoff konnte weder in jungen noch in alten Bouillonkulturen nachgewiesen werden. Läßt man den Traubenzucker im Nährboden

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weg, dann ist das Wachstum etwas verringert und beim Schütteln findet kein Aufschäumen statt.

Wenn man nun eine junge Bouillonkultur unseres Bakteriums im Hängetropfen untersucht, gewahrt man nur Kurzstäbchen, deren Breite 0,6—0,7 und deren Länge 1,5—2 μ mißt. Benutzt man zur Tinktion eine wässerige Methylenblaulösung oder Loefflersches alkalisches Methylenblau, dann sieht man in den älteren und etwas verlängerten Stäbchen im lichtblauen Protoplasma dunkelviolettblaue Körner von verschiedener Größe. Ihre Lage weist ebenfalls keine Gesetzmäßigkeit auf. Die jungen Kurzstäbchen sind bei den genannten Färbungen einheitlich blau gefärbt. Nimmt man ältere Bouillonkulturen oder 24-stündige, die bei 37—38 ° C gewachsen sind, zur Untersuchung, dann findet man neben den nur wenig verlängerten Zellen auch enorme Fäden, deren Inhalt ebenfalls die bereits genannten Körnchen und dunklere violettblau gefärbte Partieen unterscheiden läßt.

Schon anläßlich der Beschreibung der Gelatine- und Agarkulturen unseres Bakteriums wurde auf die dabei zu beobachtende Gasbildung aufmerksam gemacht. Um nun die Zusammensetzung des beim Wachstum in zuckerhaltigen Substraten auftretenden Gases näher zu untersuchen, wurde unsere Bakterienart in Gärungskölbchen gezüchtet, die mit Nährbouillon[1]) mit 1 Proz. Traubenzuckerzusatz gefüllt waren. Um einerseits für Analysenzwecke genügende Gasmengen zu erhalten und andererseits eine leichte Ueberführung des entstandenen Gases in die Absorptions- und Meßgefäße zu ermöglichen, verwendete ich beiderseits offene Gärungsröhren, deren Konstruktion aus der Figur ohne weiteres ersichtlich ist.



Nebenstehende Abbildung zeigt die Gärungsröhre ungefähr in der halben natürlichen Größe. Die Kugel faßt ungefähr 25 ccm; die weite Röhre, welche als Gassammelgefäß dient, hat ebenfalls einen Rauminhalt von ungefähr 25 ccm. An das Sammelgefäß ist ein U-Rohr angeschmolzen, welches als Verschluß dient, sobald die Röhre gefüllt ist. Sowohl das offene Rohr der Kugel als auch das U-Rohr sind mit einem Wattebausch verschlossen. Die Füllung dieser Gärungsröhren mit dem zu vergärenden Substrat ist sehr einfach. Man füllt die Kugel voll und saugt dann mit einem an das U-Rohr über dem Watteverschluß angesetzten Schlauch die Nährflüssigkeit in das Gassammelgefäß und in das U-Rohr. Dann wird wie üblich fraktioniert sterilisiert und verimpft. Sobald die ersten Gasblasen aufsteigen, wird die Flüssigkeit in zwei Teile getrennt, von denen sich der eine im U-Rohr, der andere im Sammelgefäß und in der Kugel befindet. Die punktierten Linien geben die Niveaustände nach 2-tägiger Züchtung des Bacillus cerevisiae beispielsweise wieder. Diese Gärungsröhre ist im Gebrauch sehr angenehm und nicht kostspielig, da Glashähne vollständig vermieden sind. Letztere

1) Pferdefleischwasser 100 ccm, Peptonum siccum Witte 2 g, Kochsalz 0,5 g.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden, abgesehen davon, daß sie undicht werden können, bei der Sterilisierung im Heißluftschrank sehr leicht zertrümmert und sind deshalb bei Apparaten für bakteriologische Zwecke nach Möglichkeit zu vermeiden. Daß als Sperrflüssigkeit auch Quecksilber verwendet werden kann, ist selbstverständlich. Versieht man das Kugelgefäß noch mit zwei seitlich angeschmolzenen Rohransätzen, so ist die Züchtung in verschiedenen Gasarten sehr leicht durchzuführen. Zur Gasanalyse verwendete ich die Winklersche Bürette, auf deren Meß- und Absorptionsgefäß noch ein Aufsatz zum Waschen der Gase aufgeschliffen war. Außerdem enthielt das 30 ccm fassende Absorptionsrohr noch zwei eingeschmolzene Platinkontakte zur Entzündung brennbarer Gase mit dem elektrischen Funken. Wenn auch die Hempelschen Pipetten mit getrenntem Meßrohr viel genauere Bestimmungen gestatten, so reicht für einfachere Analysen die etwas modifizierte Winklersche Bürette vollständig aus.

Wurde nun Bacillus cerevisiae durch 5 Tage bei 33° C in Traubenzuckerbouillon obiger Zusammensetzung in der eben beschriebenen Gärungsröhre gezüchtet, so war eine Gasmenge von 18—22 ccm gebildet. Die Analyse mehrerer Gasproben nach dem üblichen Verfahren der fortschreitenden Absorption und Verbrennung der brennbaren Anteile durch Explosion nach Zugabe von elektrolytisch dargestelltem Sauerstoff ergab folgende Daten:

Kohlensäure 50 Proz., Wasserstoff 39 Proz., Methan 8,5 Proz. und nicht brennbarer und absorbierbarer Anteil (Stickstoff) 2,5 Proz.

Daraus ergibt sich ein Verhältnis zwischen gebildeter Kohlensäure und Wasserstoff von 50:39 oder abgerundet von 5:4.

Ich erwähnte schon früher mehrere Male die auffallende Aehnlichkeit von Bacillus cerevisiae und Vertretern der Gruppe Bacillus coli. Ich legte nun unter gleichen Bedingungen auch Kulturen eines Stammes von Bacillus coli an und untersuchte ebenfalls das gebildete Gasgemenge. Dabei ergaben sich für die einzelnen Gase folgende Werte:

Kohlensäure 30,84 Proz., Wasserstoff 62,86 Proz. und weder brennbarer noch absorbierbarer Rückstand 6,5 Proz.

Bei dem untersuchten Coli-Stamm besteht also zwischen der Menge der produzierten Kohlensäure und des gebildeten Wasserstoffes ein Verhältnis von 30,84:62,86 oder abgerundet 1:2. Nach der zusammenfassenden Abhandlung von Escherich und Pfaundler „Bacterium coli commune" im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann besteht nun ein gegenseitiges Mengenverhältnis von Kohlensäure und Wasserstoff in den gasförmigen Produkten der durch Coli-Bakterien durchgeführten Zuckerspaltung zumeist von 1 CO_2 zu 1 H_2 bis 1 CO_2 zu 3 H_2. Ganz allgemein ergibt sich daraus, daß die Wasserstoffmenge in allen Fällen ganz bedeutend vorherrscht. Bei Bacillus cerevisiae ergeben sich gerade die umgekehrten Verhältnisse, indem hier die Kohlensäuremenge die Quantität des Wasserstoffes im produzierten Gasgemenge bei weitem übertrifft.

Im Peptonwasser[1]) ist das Wachstum von Bacillus cerevisiae bedeutend geringer als in neutraler Nährbouillon. Nach 24-stündigem Aufenthalte der Peptonwasserkulturen unseres Bakteriums bei 32° beobachten wir nur eine geringe Trübung des Nährsubstrates und

1) Peptonum siccum Witte 1,5 g, Chlornatrium 0,5 g in 100 ccm Leitungswasser.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einen unbedeutenden Bodensatz. Zu Kahmhautbildungen kommt es auch nach wochenlangem Wachstum nicht. Indol konnte in Peptonwasserkulturen nur in sehr geringen Spuren nachgewiesen werden. Bezüglich der auftretenden Bakterienformen verweise ich auf das bei den Bouillonkulturen bereits Mitgeteilte.

In sterile Milch überimpft, vermehrt sich unsere Bakterienart beim Temperaturoptimum gut, wie man sich durch den Plattenguß unmittelbar nach der Infektion und nach 24-stündigem Aufenthalt der Kultur im Brütschrank überzeugen kann. Dabei findet keine sichtbare Veränderung des Nährsubstrates statt. Selbst mehrere Wochen alte Milchkulturen zeigen keine Ausfällung oder Lösung des Kaseins.

Wachstum auf verschieden sauerer und alkalischer Gelatine und Bouillon.

Die Technik dieser Versuche deckt sich mit den schon vorher gemachten Angaben. Bacillus cerevisiae bevorzugt eine geringe Alkaleszenz der Gelatine und gedeiht am besten bei einer Alkalimenge von 2 Proz. Normalnatronlauge. Nach 48-stündigem Aufenthalt bei 20° C zeigen die Röhrchen mit neutraler Nährgelatine und solcher von 1—4 Proz. Normalnatronlauge Wachstum. Nach 6—8 Tagen beobachtet man auch Wachstum in den Röhrchen mit 1 Proz. Normalessigsäure und 5, 6 und 7 Proz. Normalnatronhydrat.

Viel bessere Einblicke gewährt die Zucht unserer Bakterienart in verschieden sauerer und alkalischer Nährbouillon. In Tabelle III sind die Ergebnisse dieser Versuche zusammengestellt.

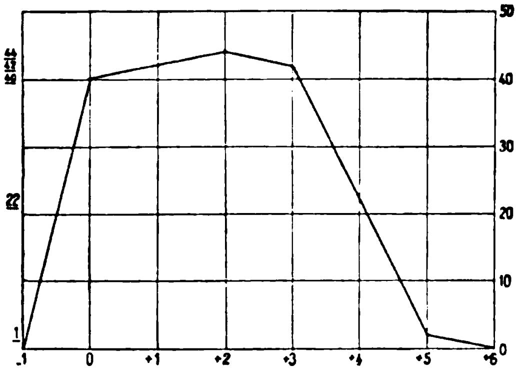
Tabelle III.

Bezeichnung in der Kurve	100 ccm Bouillon enthalten				Wachstum bei 32° C	
	Normal-$C_2H_4O_2$ ccm	$C_2H_4O_2$ g	Normal-NaOH ccm	NaOH g	nach 24 Stunden	nach 3 Tagen
—2	2	0,12	—	—	Kein Wachstum	Kein Wachstum
—1	1	0,06	—	—	Kein Wachstum	Kein Wachstum
0	0	0	0	0	Sehr starke allgemeine Trübung, Bodensatz, keine Kahmhaut	Sehr starke allgemein Trübung, bedeuten der Bodensatz, kein Kahmhaut
+1	—	—	1	0,04	Noch stärkere Trübung und Bodensatz, keine Kahmhaut	Bedeutend stärkere Trübung mit viel Bodensatz. Sehr zarte Kahmhaut
+2	—	—	2	0,08	Optimales Wachstum. Keine Kahmhaut	Ausgezeichnetes Wachstum mit sehr vi Bodensatz. Zarte Kahmhaut
+3	—	—	3	0,12	Wachstum ungefähr wie bei +1	Wachstum wie bei +
+4	—	—	4	0,16	Sehr geringe allgemeine Trübung, kein Bodensatz, keine Kahmhaut	Allgemeine Trübun geringer Bodensat keine Kahmhaut
+5	—	—	5	0,20	Kein Wachstum	Spur Trübung oh Bodensatz und Kahmhaut
+6	—	—	6	0,24	Kein Wachstum	Kein Wachstum

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus Tabelle III geht hervor, daß das Alkaleszenzoptimum für unsere Bakterienart bei einem Gehalt von 2 Proz. Normalalkali liegt. Gegen Säuren ist sie sehr empfindlich, denn eine Menge von 0,06 g Essigsäure in 100 ccm Nährbouillon genügt, um jede Vermehrung zu unterdrücken. Auch größere Mengen von Alkali wirken hindernd auf das Wachstum und eine Menge von 0,24 g Aetznatron in 100 ccm Nährbouillon schließt jede Vermehrung der eingesäten Bakterien aus.

Wenn wir nach den vorher niedergelegten Prinzipien die Wachstumsgrößen in den einzelnen Röhren nach 48-stündigem Aufenthalt bei 32 ° C zahlenmäßig feststellen und die erhaltenen Werte als Ordinaten auftragen, während die Abscisse die Werte für die Alkali- bezw. Säuremengen enthält, erhalten wir Kurve II.



Kurve II.

Aus der nebenstehenden Kurve entnehmen wir, daß optimales Wachstum bei + 2 herrscht. Von hier fällt die Kurve unter geringer Neigung gegen 0 bezw. + 3 ab, Von Neutral (0) gegen Sauer (— 1) und von + 3 gegen + 4 ist ein sehr steiler Abfall zu sehen. Das Wachstum nimmt also sehr rasch ab und erreicht bei — 1 (1 Proz. Normalessigsäure) Null und bei + 5 (5 Proz. Normalätznatron) fast Null.

Wachstum auf anorganischer Nährlösung mit besonderen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen.

Als anorganische Nährlösung fand auch hier die von Arthur Meyer (l. c.) angegebene mineralische Nährlösung II Verwendung, deren Zusammensetzung bereits früher mitgeteilt ist. Als Kohlenstoffquellen dienten Dextrose, Saccharose, Laktose und endlich Glycerin in einer Menge von 1 g in 100 ccm Nährlösung.

Von besonderen Stickstoffquellen fanden Verwendung Asparagin, milchsaures Ammonium, weinsaures Ammonium, Chlorammonium und Kaliumnitrat in einer Menge von 1 g in 100 ccm anorganischer Nährlösung. Wo die Reaktion sauer war, wurde sie mit verdünnter Natronlauge auf neutral gebracht. Auch hier wurde die Sterilisierungsdauer auf das zulässige Minimum von 8 Minuten herabgesetzt, um Aenderungen in den Nährsubstraten nach Tunlichkeit auszuschalten.

Die Wachstumsverhältnisse von Bacillus cerevisiae auf den genannten Nährsubstraten sind in Tabelle IV zusammengestellt, und gleichzeitig die mit Bacillus coli unter denselben Bedingungen erhaltenen Ergebnisse angefügt, um beide Bakterienarten in ihren biologischen Eigentümlichkeiten leichter vergleichen zu können.

(Siehe Tabelle IV p. 230, 231.)

Aus Tabelle IV geht hervor, daß Bacillus cerevisiae im allgemeinen bei Darreichung von einfacheren und einfachen Stickstoffquellen unter gleichzeitiger Zugabe von Dextrose, Saccharose, Laktose, bezw. Glycerin als Kohlenstoffquellen mehr

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Nummer	Mineralische Nährlösung ccm	Asparagin g	Ammonium-laktat g	Ammonium-tartrat g	Ammonium-chlorid g	Kaliumnitrat g	Dextrose g	Saccharose g	Laktose g	Glycerin g	Wachstum nach 24 Stunden bei 36° C von Bacillus cerevisiae	Bacillus coli
1	100	1	—	—	—	—	1	—	—	—	Schwache, allgemeine Trübung, geringer Bodensatz, keine Kahmhaut. Verhältnismäßig geringes Wachstum	Stärkere allgemeine Trübung, beträchtlicher Bodensatz. Viel besseres Wachstum
2	100	1	—	—	—	—	—	1	—	—	Etwas stärkere Trübung als in No. 1, geringer Bodensatz, keine Kahmhaut. Etwas besseres Wachstum als in No. 1	Schwächere allgemeine Trübung, geringer Bodensatz. Bedeutend geringeres Wachstum als in No. 1.
3	100	1	—	—	—	—	—	—	1	—	Wachstum ungefähr gleich wie in No. 2. Allgemeine Trübung mit geringem Bodensatz	Wachstum bedeutend besser als in No. 1, Ueberhaupt optimal für Asparagin + den genannten C-Quellen
4	100	1	—	—	—	—	—	—	—	1	Sehr geringe allgemeine Trübung, kein Bodensatz, keine Kahmhaut. Sehr geringes Wachstum	Noch kein Wachstum zu beobachten
5	100	—	1	—	—	—	1	—	—	—	Schwache allgemeine Trübung, geringer Bodensatz. Wachstum ungefähr wie in No. 4, also gering	Starke allgemeine Trübung, etwas Bodensatz. Gutes Wachstum
6	100	—	1	—	—	—	—	1	—	—	Spur einer geringen Opaleszenz. Wachstum äußerst spärlich, kaum wahrnehmbar	Schwächere allgemeine Trübung als in No. 5. Fast kein Bodensatz. Wachstum noch gut
7	100	—	1	—	—	—	—	—	1	—	Noch kein Wachstum zu beobachten	Starke allgemeine Trübung, wie in No. 5. Geringer Bodensatz. Gutes Wachstum
8	100	—	1	—	—	—	—	—	—	1	Spur Trübung, Spur Bodensatz. Sehr geringes Wachstum	Allgemeine Trübung, etwas Bodensatz. Wachstum wie in No. 6, also noch gut
9	100	—	—	1	—	—	1	—	—	—	Starke allgemeine Trübung, beträchtlicher Bodensatz. Sehr gutes Wachstum, wie in No. 1	Starke allgemeine Trübung, bedeutender Bodensatz. Am Glas überall Gasblasen. Die Flüssigkeit schäumt. Bestes Wachstum
10	100	—	—	1	—	—	—	1	—	—	Allgemeine Trübung mit geringem Bodensatz. Etwas geringeres Wachstum wie in No. 9. Wachstum gut	Spur von Opaleszenz. Wachstum fast Null
11	100	—	—	1	—	—	—	—	1	—	Spur Opaleszenz. Fast kein Wachstum	Allgemeine Trübung, geringer Bodensatz. Wachstum gut
12	100	—	—	1	—	—	—	—	—	1	Sehr geringe Trübung, kein Bodensatz. Geringes Wachstum	Schwächere allgemeine Trübung, etwas geringer als in No. 11. Wachstum gut

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nummer	Mineralische Nährlösung ccm	Asparagin g	Ammonium-laktat g	Ammonium-tartrat g	Ammonium-chlorid g	Kaliumnitrat g	Dextrose g	Saccharose g	Laktose g	Glycerin g	Wachstum nach 24 Stunden bei 36° C von Bacillus cerevisiae	Bacillus coli
13	100	—	—	—	1	—	1	—	—	—	Geringe allgemeine Trübung, mit sehr wenig Bodensatz. Wachstum nicht besonders gut	Stärkere allgemeine, grobflockige Trübung. Ebensolcher Bodensatz. Wachstum gut
14	100	—	—	—	1	—	—	1	—	—	Wachstum wie in No. 13	Eben wahrnehmbare Opaleszenz. Wachstum äußerst gering
15	100	—	—	—	1	—	—	—	1	—	Eben wahrnehmbare allgemeine Trübung, kein Bodensatz. Sehr geringes Wachstum	Allgemeine Trübung, grobflockig mit gleichem Bodensatz. Wachstum gut
16	100	—	—	—	1	—	—	—	—	1	Wachstum ungefähr wie in No. 10, etwas besser	Noch kein Wachstum zu bemerken
17	100	—	—	—	—	1	1	—	—	—	Allgemeine Trübung mit Bodensatz. Wachstum gut	Eben sichtbare Trübung. Wachstum äußerst gering
18	100	—	—	—	—	1	—	1	—	—	Stärkere allgemeine Trübung und Bodensatz wie in No. 17. Wachstum gut	Noch kein Wachstum zu beobachten
19	100	—	—	—	—	1	—	—	1	—	Eben wahrnehmbare Opaleszenz. Wachstum äußerst spärlich, fast Null	Wachstum wie in No. 17
20	100	—	—	—	—	1	—	—	—	1	Etwas geringere allgemeine Trübung als in No. 17. Wachstum noch als gut zu bezeichnen	Noch kein Wachtstum festzustellen

oder minder gut zu gedeihen vermag, selbst wenn man bei etwas über das Temperaturoptimum erhöhter Temperatur züchtet. Hält man den Bacillus coli, oder besser gesagt einen Vertreter dieser großen Gruppe, der die sonst üblichen Eigentümlichkeiten gut zeigt, unter den gleichen Bedingungen und züchtet in den gleichen Nährlösungen, so erhält man ziemlich wesentliche Unterschiede zwischen den genannten beiden Bakterienarten, die doch größer sind, als wie sie sonst die ziemlich verschiedenen Vertreter der Gruppe „Coli" aufzuweisen pflegen.

Betrachten wir die Wachstumsverhältnisse der genannten beiden Bakterienarten in der Nährlösung mit 1 Proz. Asparagin und Dextrose, Saccharose, Laktose bezw. Glycerin in einer Menge von 1 Proz., so finden wir als Unterschied die Eigentümlichkeit des Bacillus coli, gerade in Asparaginlösungen dann optimal zu gedeihen, wenn Laktose als Kohlenstoffquelle gleichzeitig gegeben wird (vergl. Tab. IV, No. 3). Bacillus cerevisiae dagegen wächst überhaupt in Asparaginlösungen mit besonderen Kohlenstoffquellen nicht besonders gut und viel schwächer als Bacillus coli, am besten noch bei gleichzeitiger Darreichung von Saccharose oder Laktose. Zu beachten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist auch, daß in glycerinhaltiger Asparaginlösung nach 24 Stunden bei 36° C Bacillus coli überhaupt noch kein Wachstum aufweist und erst in der Folge sich langsam zu vermehren vermag. Auch in Bezug auf die in diesen Nährmedien entstehenden Wuchsformen weisen Bacillus cerevisiae und Bacillus coli einschneidende Unterschiede auf, die eine Vereinigung beider Mikroben in einer Gruppe absolut nicht zulassen. Bacillus cerevisiae bildet im Verlauf seines Wachstums regelmäßige Fadenbildungen, deren Inhalt eine körnige Beschaffenheit zeigt und später stärker gefärbte Plasmateile von schwächer gefärbten unterscheiden läßt. Auf eine eingehende Beschreibung des ganzen Entwickelungskreises unserer Bakterienart muß ich hier füglich verzichten und sie für eine spätere umfassende Mitteilung über diese Verhältnisse aufbewahren. Bacillus coli zeigt unter den gleichen Verhältnissen gezüchtet keine Fadenbildungen und eine wesentlich andere Anordnung der stärker und schwächer färbbaren Zellbestandteile. Ueberhaupt fällt gerade bei der Züchtung in Asparagin + Glycerin, wo erst nach 4—6 Tagen geringes Wachstum zu beobachten ist, die außerordentliche Kleinheit der darin angegangenen Stäbchen auf, die zu dieser Zeit noch homogen tingiert sind. Weitere Unterschiede, die sich auch auf alle anderen hier geprüften Nährlösungen beziehen, bestehen auch darin, daß Bacillus cerevisiae mit wenigen Ausnahmen stets mehr oder minder zarte, beim Schütteln in Fetzen zerfallende Kahmhäute bildet, die wir bei der Zucht des gleichzeitig untersuchten Coli-Stammes immer vermißten.

Wenn wir nun an Stelle des Asparagins in der angegebenen Nährlösung milchsaures Ammoniak verwenden, so beobachten wir nur sehr geringes Wachstum von Bacillus cerevisiae, nach 24 Stunden bei gleichzeitiger Zugabe von Laktose überhaupt noch keines (vergl. Tab. IV, No. 7). Unter gleichen Verhältnissen zeigt Bacillus coli gutes Wachstum, optimal bei der Darreichung von Traubenzucker oder Laktose als Kohlenstoffquelle (vergl. Tab. IV, No. 5 u. 7).

Weinsaures Ammoniak als Stickstoffquelle mit Traubenzucker oder Rohrzucker (Tab. IV, No. 9 u. 10) als gleichzeitige Kohlenstoffquelle ist für Bacillus cerevisiae ebenfalls ein gutes Nährsubstrat, während bei Zugabe von Laktose oder Glycerin nur geringes Wachstum unserer Bakterienart statthat. Züchten wir darauf Bacillus coli, so haben wir nicht nur in den Röhrchen mit Traubenzucker, sondern auch in denen mit Laktose und Glycerin gutes Wachstum, während bei Darreichung von Saccharose als C-Quelle das Wachstum fast Null ist (vergl. Tab. IV, No. 9—12).

Verwenden wir Chlorammonium als Stickstoffquelle und Dextrose, Saccharose oder Glycerin als Kohlenstoffquelle, so wächst Bacillus cerevisiae im allgemeinen schlecht, verhältnismäßig am besten noch in Verbindung mit Traubenzucker (vergl. Tab. IV, No. 13). Bei der Zucht von Bacillus coli auf den genannten Nährsubstraten ist gutes Wachstum bei gleich-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zeitiger Darreichung von Traubenzucker oder Milchzucker festzustellen.

Dient endlich Kaliumnitrat als Stickstoffquelle unter geichzeitiger Anwendung von den genannten 4 Kohlenhydraten als Kohlenstoffquelle, dann wächst Bacillus cerevisiae im allgemeinen bedeutend besser als Bacillus coli. Erstere Bakterienart gedeiht dann am besten, wenn ihr als Kohlenstoffquelle Rohrzucker zur Verfügung steht, noch gut mit Glycerin oder Traubenzucker. Bacillus coli wächst überhaupt nur sehr spärlich und nur dann, wenn Traubenzucker oder Milchzucker zur Verfügung stehen.

Ganz allgemein ergibt sich aus dem Mitgeteilten, daß Bacillus cerevisiae mit den genannten Stickstoffquellen dann gut gedeiht, wenn Dextrose, Saccharose oder Glycerin gleichzeitig als Kohlenstoffquelle gegeben wird, und am schlechtesten bei Laktose als Kohlenstoffquelle. Dem gegenüber ist neben Traubenzucker für Bacillus coli gerade Milchzucker das zugänglichste Kohlenhydrat.

Zusammenfassung.

Bacillus flavus.

Auf der Gelatineplatte bildet Bacillus flavus scharf begrenzte, hellgelbe Kolonieen, die nur wenig erhaben und kreisrund sind.

Die tiefliegenden Kolonieen sind kugelförmig von schmutziggelber Farbe und ohne Ausläufer.

Bacillus flavus verflüssigt die Nährgelatine nur sehr langsam.

Das mit $^1/_8$ Karbolfuchsin gefärbte Ausstrichpräparat einer jungen, 24-stündigen Oberflächenkolonie unserer Bakterienart zeigt homogen tingierte, kurze, eiförmige Stäbchen, die keine Neigung zu Kettenbildung zeigen. Ihre Länge mißt 1—1,2 μ, ihre Breite 0,6 μ.

Die Gelatinestichkultur von Bacillus flavus zeigt vornehmlich Wachstum an der Oberfläche um den Stichkanal und spärliche Vermehrung in letzterem. Mit fortschreitender Verflüssigung sammelt sich ein schwach weißgelber Bodensatz an, während die Flüssigkeit gelb gefärbt ist.

Auf neutralem Nähragar bildet sich nach 24 Stunden bei 35° C ein breiter, durchscheinender Belag, dessen Ränder vielfach zart gebuchtet sind. Die Farbe desselben ist hellgelb, später geht sie in dunkelgoldgelb über. Das Kondenswasser ist stark getrübt.

Der Farbstoff diffundiert in den Nährboden und läßt sich in der Kälte mit Wasser oder verdünnten Alkalien und Säuren ausziehen. Das Pigment ist lichtunbeständig. In fettlösenden Agentien ist es vollständig unlöslich.

Bacillus flavus besitzt sein Temperaturoptimum um 25° C.

Unsere Bakterienart ist ausgezeichnet eigenbeweglich. Die Ortsveränderung geschieht unter Pendelbewegungen in geradliniger Bahn.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacillus flavus ist peritrich mit 3—4 langen, geschwungenen und zarten Geißelfäden begeißelt.

Nach Gram behandelt, wird Bacillus flavus entfärbt.

Agarstichkulturen zeigen Wachstum im Impfstich und an der Oberfläche. Zugesetzte Zucker werden nicht unter Gasbildung vergoren.

Bacillus flavus ist ein fakultativer Anaërobiont.

Auf der Kartoffelscheibe bildet Bacillus flavus einen honiggelben, glänzenden, schleimigen Belag, dessen Farbe in der Folge dunkler wird.

Weder auf der Kartoffel noch auf einem anderen Nährsubstrat ist die Bildung von endogenen Sporen zu beobachten.

Auf dem Weißen der gekochten Eischeibe bildet Bacillus flavus einen dottergelben Belag. Augenfällige Veränderungen dieses Nährsubstrates sind nicht zu verzeichnen.

In neutraler Nährbouillon verursacht Bacillus flavus zuerst eine allgemeine Trübung. Später tritt Klärung der Flüssigkeit ein und an der Oberfläche Ausbildung einer zarten gelben Kahmhaut. Die in der 48-stündigen, bei 35° C gehaltenen Bouillonkultur entstandene Säuremenge entspricht 2,897 ccm Normalalkali.

In Peptonwasser wächst Bacillus flavus schlecht und bildet keine Kahmhaut.

Indol wird nicht gebildet.

In sterilisierter Milch vermehrt sich Bacillus flavus nur langsam. Nach 8—10 Tagen wird das Kasein als schleimige Masse gefällt, die in der Folge langsam gelöst wird.

Bacillus flavus zeigt optimales Wachstum auf Gelatine mit 1 Proz. Normalnatronlauge. 4 Proz. Normalalkali oder 1 Proz. Normalessigsäure verhindern jede Vermehrung.

Für Bouillon liegt das Alkaleszenzoptimum ebenfalls bei 1 Proz. Normalnatronlauge. 2 Proz. Normalessigsäure und 5 Proz. Normallauge verhindern das Wachstum vollständig.

Bacillus flavus kann in anorganischen Nährlösungen Asparagin, Ammoniumlaktat, Ammoniumtartrat, Ammoniumchlorid und Kaliumnitrat als Stickstoffquellen ausnützen, sofern gleichzeitig besondere Kohlenstoffquellen in Form von Dextrose, Saccharose, Laktose bezw. Glycerin dargeboten werden. Dabei ist hervorzuheben, daß Laktose dabei am wenigsten aufgespalten wird.

Bacillus cerevisiae.

Auf der neutralen Gelatineplatte entstehen blattförmige, an Coli-Kolonieen erinnernde Auflagerungen, die die Gelatine nicht peptonisieren.

Die tiefliegenden Kolonieen stellen linsenförmige Gebilde dar, deren Struktur körnig ist. Sie besitzen im durchfallenden Licht betrachtet eine milchweiße Farbe.

Im gefärbten Ausstrichpräparat von 24-stündigen Gelatineoberflächenkolonieen gewahrt man an den Enden abgerundete

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

homogen tingierte Kurzstäbchen von 1—1,5 μ Länge und 0,6 μ Breite. Die wenigen längeren Stäbchen zeigen schwache polare Tinktion.

In der Gelatinestichkultur wächst Bacillus cerevisiae sowohl an der Oberfläche als auch in der Tiefe. In Traubenzuckergelatine findet kräftige Gasbildung statt.

Auf der Ebene der schief erstarrten Gelatine bildet sich ein reinweißer ziemlich dicker Belag, der nach 5—6 Tagen vollständig undurchsichtig wird.

Auf neutralem Nähragar entsteht ein weißer, derber Belag, der sich leicht abimpfen läßt und nicht fadenziehend ist. Das Kondenswasser ist getrübt.

Bacillus cerevisiae ist gut beweglich und besitzt peritrich angeordnet 5—8 lange Geißelfäden.

Das Temperaturoptimum liegt zwischen 30 und 33° C. Bei diesen Temperaturen entstehen in jungen Kulturen nur Kurzstäbchen. Bei 35—36° C treten bereits Fadenbildungen in den Vordergrund, obgleich die Vermehrung noch gut ist.

Bacillus cerevisiae ist ein fakultativer Anaërobiont.

Sporenbildung konnte bisher noch nicht beobachtet werden.

Auf der sterilisierten Kartoffelscheibe bildet Bacillus cerevisiae einen feuchten, gelblichweißen Belag.

Auf dem Weißen des gekochten Hühnereies entsteht ein fast unsichtbarer, feuchtglänzender Belag, dabei wird das Nährsubstrat nicht augenfällig verändert.

In neutraler Nährbouillon mit Traubenzucker gedeiht unsere Bakterienart ausgezeichnet. Nach einigen Tagen kommt es zur Bildung einer zarten Kahmhaut.

Bacillus cerevisiae bildet in Traubenzuckerbouillon kräftig Gas. Die Analyse des entstandenen Gasgemenges ergab: Kohlensäure 50 Proz., Wasserstoff 39 Proz., Methan 8,5 Proz. und Stickstoff 2,5 Proz.

Peptonwasserkulturen zeigen verhältnismäßig geringes Wachstum. Kahmhautbildungen fehlen. Indol ist nur spurweise zu finden.

In sterilisierter Milch vermehrt sich Bacillus cerevisiae ohne sichtbare Veränderung des Nährsubstrates gut.

Für Gelatine- und Bouillonkulturen liegt das Alkaleszenzoptimum bei einem Gehalte von 2 Proz. Normalnatronlauge. 1 Proz. Normalessigsäure und 5 Proz. Normalnatronlauge genügt, um in Bouillonkulturen jedes Wachstum zu unterdrücken.

Bacillus cerevisiae vermag in mineralischer Nährlösung unter Zugabe von Asparagin, weinsaurem Ammoniak, milchsaurem Ammoniak, Ammoniumchlorid bezw. Kaliumnitrat, als Stickstoffquellen und Traubenzucker, Rohrzucker, Milchzucker oder Glycerin als Kohlenstoffquellen mehr oder minder gut zu gedeihen und unterscheidet sich gerade hierin und in Bezug auf seine Wachsformen ganz wesentlich von **Bacillus coli.** Letzterer wächst gerade bei Milchzuckergaben gut, während Bacillus cerevisiae dann relativ am schlechtesten gedeiht.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tafelerklärung.

Fig. 1. Photogramm einer 48-stünd. Gelatineoberflächenkolonie von Bacillus cerevisiae. Vergr. 15.

Fig. 2. Mit 1/3 Karbolfuchsin gefärbtes Ausstrichpräparat von einer 24-stünd. bei 36° C gewachsenen Agarstrichkultur des Bacillus cerevisiae. Vergr. 1000.

Fig. 3. Lichtbild eines mit 1/3 Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparates von Bacillus cerevisiae, der auf neutraler Gelatine bei 20° C durch 48 Stunden gezüchtet wurde. Vergr. 1000.

Fig. 4. Geißelphotogramm von Bacillus cerevisiae. Vergr. 1000.

Fig. 5. Photogramm des Ausstrichpräparates einer bei 22° C durch 24 Stunden Agarkultur von Bacillus cerevisiae nach Färbung mit 1/3 Karbolfuchsin. Vergr. 1000.

Fig. 6. Lichtbild des mit wässeriger Fuchsinlösung gefärbten Klatschpräparates von einer Kolonie des Bacillus flavus auf Gelatine. Es ist nur ein kleiner Teil des Randes wiedergegeben. Vergr. 1000.

Fig. 7. Photogramm eines mit 1/3 Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparates von einer 24-stünd. bei 20° C gehaltenen Agarstrichkultur des Bacillus flavus. Vergr. = 1000.

Fig. 8. Photogramm eines ebenfalls mit 1/3 Karbolfuchsin tingierten Ausstriches einer 24-stünd. bei 36° C gewachsenen Agarstrichkultur von Bacillus flavus. Vergr. 1000.

Fig. 9. Geißelphotogramm von Bacillus flavus.

Nachdruck verboten.

Der Einfluss des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien.

[Arbeit aus dem landw.-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **Guido Koestler,**

Assistent der Bernischen Molkereischule Rütti-Zollikofen (Schweiz).

Mit 18 Fig.

(Fortsetzung.)

3. Gleiche Mengen Kultur in flacher und hoher Schicht.

Als Nährboden wählten wir einerseits Milch und andererseits 1-proz. Peptonschotte. Der Versuch zerfällt in 3 verschiedene Teile; die Resultate sind aber der Uebersicht halber hier zusammenhängend mitgeteilt.

Versuch No. 19.

Nährboden: Versuch A: 1-proz. Peptonschotte, Säuregrad frisch = 8,2
Versuch B: Frische Käsereimilch „ „ = 8,8
Versuch C: „ „ „ „ = 6,6

Impfkulturen: Versuch A: Bact. Güntheri a und b 20 Std. alte Milchkultur
Bac. casei ε C und D 20 „ „ „
Versuch B: Mit Kulturen von Versuch A angesetzte Milchkulturen (20 Std. alt),
Versuch C: wie Versuch B.

Versuchsanlage: In hoher Schicht = große Reagenzgläser mit 25 ccm Nährboden (Flüssigkeitshöhe 65—70 mm),
In flacher Schicht = Erlenmeyerkolben mit 25 ccm Nährboden (Flüssigkeitshöhe 12 mm).

Versuchstemperatur: Bact. Güntheri 30° C
Bac. casei ε 37° C

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

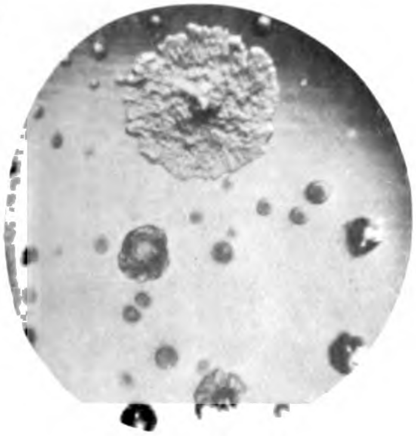


Fig. 1.

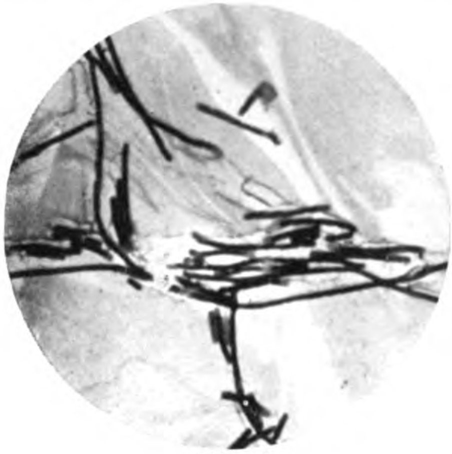


Fig. 2.

Fig. 9.

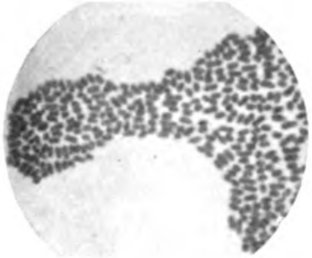


Fig. 6.

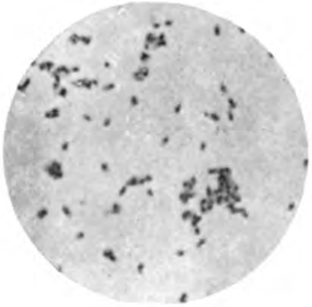


Fig. 7.

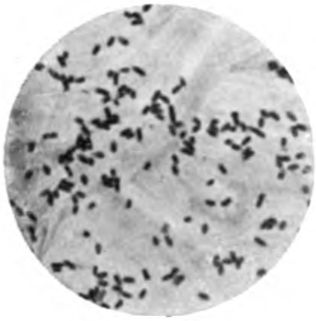


Fig. 8.

Fig. 3.

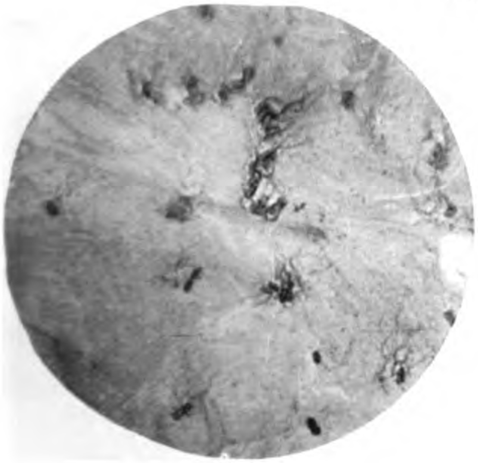


Fig. 4.

Fig. 5.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Impfung: mit kleiner Platinöse.

Versuchs-organismus	Probe No.	Versuchs-temperatur °C	Kubikcentimeter $\frac{4}{n}$ Kalilauge pro 100 ccm Molke					
			Versuch A		Versuch B		Versuch C	
			In hoher Schicht	In flacher Schicht	In hoher Schicht	In flacher Schicht	In hoher Schicht	In flacher Schicht
Bact. Güntheri a	I	30°	17,6	18,4	33,6	33,2	30,8	29,6
Bact. Güntheri a	II	30°	18,0	18,2	33,0	33,4	30,6	29,2
Bact. Güntheri b	I	30°	17,4	16,4	8,8	8,6	25,6	23,2
Bact. Güntheri b	II	30°	17,6	16,8	8,8	8,0	28,8	22,8
Bac. casei ε C	I	37°	41,8	31,4	19,4	17,0	6,4	6,8
Bac. casei ε C	II	37°	41,4	30,4	18,0	16,6	6,6	6,4
Bac. casei ε D	I	37°	44,4	31,0	28,8	21,0	41,6	12,4
Bac. casei ε D	II	37°	44,8	31,2	27,8	19,4	32,2	15,2
Kontrollen:								
Bact. Güntheri	—	30°	8,2	8,2	8,8	8,6	6,6	6,6
Bac. casei ε	—	37°	8,0	8,2	8,8	8,3	6,4	6,4

Die große Gleichheit der Säurezahlen analog behandelter Proben beweist, daß auch beim Arbeiten mit Reinkulturen jener Satz gilt, den wir gelegentlich der Versuche mit Rohkultur ausgesprochen haben, daß für ein und dieselbe Kultur unter gleichen Verhältnissen die Säuerungsintensität der letzteren konstant ist. Die Höhendifferenz der Kulturschichten resp. der Grad der Lufteinwirkung hat besonders für Bac. casei ε eine Depression der Säuerungsgeschwindigkeit in flacher Schicht zur Folge. Während für Bact. Güntheri die bezüglichen Unterschiede teilweise verschwindend klein sind, erreicht Bacillus casei ε D in Teilversuch C in hoher Schicht einen mehr als 3mal so hohen Säuregrad als in flacher Schicht. Die mikroskopische Prüfung der Kulturen lehrte, daß für Bact. Güntheri keine bemerkenswerten morphologischen Unterschiede vorhanden sind, währenddem für Bac. casei die Kulturen mit kräftigem Luftzutritt fast ausnahmslos kurze (2,5—4 μ lange), selten kurzgliedrige Ketten bildende Stäbchen enthielten. Die Kulturen in hoher Schicht wiesen meist längere (3,5—10 μ lange), häufig zu längeren, verkrümmten Fäden verbundene Zellen auf. Ob jene auffallende Erscheinung die Folge einer schädigenden Wirkung des Luftsauerstoffes ist, werden wir zu entscheiden haben. Das gelegentliche Ausbleiben der geimpften Kultur im Wachstum ist ohne Zweifel auf eine zu kleine Impfmenge zurückzuführen; es soll daher der Einfluß der Impfmenge auf das Zustandekommen einer mehr oder weniger kräftigen Gärung in einer besonderen Versuchsreihe besprochen werden (p. 33). Daß durch Bact. Güntheri in Milch regelmäßig eine viel größere Säuremenge produziert wird, als dem für Peptonschotte nicht überschreitbaren Maximum entspricht (23 Grad Säure, siehe unten), kann uns nicht wundern. Bei Titrierung der Milch auf Phenolphtalein wird nämlich nicht nur die freie Milchsäure, sondern auch die an das Kasein gebundene, wie fernerhin, die Menge der sauren Phosphate und des Kaseins als solches neutralisiert. Die in Wirklichkeit vorhandene freie Milchsäuremenge ist infolgedessen kleiner, als die durch den Säuregrad angezeigte, was dem gegenüber freier Milchsäure sehr empfindlichen Bacterium Güntheri gestattet, in Milch einen höheren Säuregrad zu erreichen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Resumé.

1) Es besteht ein Unterschied in der Säuerungsintensität der angewandten Organismen, je nachdem diese in niederer oder hoher Flüssigkeitsschicht gezüchtet werden, und zwar wird im ersteren Falle der geringere Säuregrad erzielt.

2) Die diesbezüglichen Differenzen sind für Bac. casei ε meistens ganz bedeutende, während Bact. Güntheri den Unterschied weniger hervortreten läßt.

3) Bac. casei ε zeigt in den Kulturen mit niedriger Flüssigkeitsschicht vorwiegend einzeln stehende, im Verhältnis zu den normalen Wuchsformen ungewöhnlich kurze Stäbchen.

4. Gleiche Mengen Kultur in flacher und hoher Schicht bei künstlich geschaffenem Sauerstoffausschluß.

Die Resultate des vorhergehenden Versuches lassen vermuten, es finde tatsächlich in den Kulturen in flacher Schicht eine Schädigung der betreffenden Bakterien durch den Sauerstoff statt, wodurch der normale Verlauf der Gärung gestört wird. Es lag nun die Frage auf der Hand, ob man nicht durch künstlich geschaffene Sauerstoffabsorption im stande wäre, die Säuerungsintensität der Kultur einerseits in hoher Schicht noch zu heben, andererseits den schädlichen Einfluß der niederen Schicht auszuschalten.

Zur Schaffung dieser gewünschten anaëroben Verhältnisse wandten wir das von Burri in folgender Weise modifizierte Wrightsche (20) Verfahren an.

Nachdem die Kulturen in den Versuchsgefäßen geimpft sind, wird der Wattebausch so weit in dasselbe hineingestoßen, bis genügend Platz vorhanden ist zur Aufnahme eines ungefähr gleich großen Stückes fettfreier Watte. Die letztere wird mit einer, dem Luftraume des Kulturglases entsprechenden Menge 20-proz. Pyrogallussäurelösung und schließlich mit einer gleichgroßen Menge 20-proz. Kalilauge übergossen; nun dreht man einen Gummizapfen gut ein. Nach Kürsteiner (21) genügen 3 zu 3 Tropfen der oben genannten Lösungen, um in einem gewöhnlichen Reagenzglas mit 10 ccm Kultur (ca. 20 ccm Luftraum) in 2—4 Stunden eine so weitgehende Sauerstoffabsorption zu erhalten, daß die strengsten Anaërobier ihr Wachstum bis zur Oberfläche der Kultur treiben. Diese speditive, einfache Methode erwies sich besonders geeignet zur Ausführung unserer beabsichtigten Serienversuche. Nehmen wir für unseren Fall an, es bliebe in unseren Kulturgläsern nach Einfüllen des Nährbodens (25 ccm) noch ein Luftraum von ca. 80 ccm, so würde der Zusatz von je 1 ccm der oben genannten Chemikalien genügen; um ganz sicher zu gehen, wandten wir je das doppelte Quantum an.

a) Einfluß der Impfmenge.

Zu diesen Versuchen sollten für Bacillus casei ε zwei verschiedene Organismen, A und B, zur Verwendung gelangen. Die Impfmenge wurde im Dezimalverhältnis in folgender Weise abgestuft:

Aus einer 24 Stunden alten Peptonschottenkultur wurde mit einer sterilen, 1 ccm fassenden Pipette die genannte Menge in einen sterilen, auf 100 ccm geaichten Kolben gebracht. Mit der gleichen Pipette erhielten die ersten Proben je 1 ccm der Kultur. Mit einer zweiten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sterilen Pipette wurde in die Proben 2 je $^1/_{10}$ ccm Impfkultur eingetropft. Der mit 1 ccm Kultur versehene Meßkolben wurde nun mit sterilem Wasser bis zur Marke 100 aufgefüllt und nach Aufsetzen des in sterile Watte eingebundenen Glasstöpsels gut gemischt. 1 ccm dieser Mischung, der $^1/_{100}$ ccm der ursprünglichen Impfkultur entspricht, gelangte steril in einen zweiten Meßkolben à 100 ccm, und zudem wurden sämtliche Proben 3 mit 1 ccm dieser Mischung geimpft. Der zweite Meßkolben wurde auf 100 aufgefüllt und gemischt. 1 ccm diente wieder zur Herstellung einer weiteren Verdünnung und ebensoviel zur Impfung der Proben 4 u. s. w.

Versuch No. 20.

Nährboden: 0,2-proz. Peptonschotte; Säuregrad 3,6
2,0 „ „ „ 7,8
Impfkulturen: Bac. casei ε A 24 Std. alte Peptonschottenkultur
Bac. casei ε B 24 „ „ „
Versuchsansatz: ++ Kultur in flacher Schicht (12 mm hoch)
\+ „ „ hoher „ (65—70 mm hoch)
— „ „ „ „ (65—70 „ „) mit Anaërobenverschluß
Versuchstemperatur: 40°—42° C.

Peptongehalt des Nährbodens Proz.	Impfmenge in Kubikcentimeter der Peptonschotten-kultur	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Kultur nach 48 Stunden: Bac. casei ε A ++	+	—	Bac. casei ε B ++	+	—
0,2	1	7,6	6,0	20,8	36,0	56,0	60,0
	$^1/_{10}$	3,6	6,0	18,8	6,4	48,8	54,4
	$^1/_{100}$	3,6	21,6	20,8	9,2	46,4	36,8
	$^1/_{10000}$	3,2	17,6	18,8	3,6	26,0	39,6
	$^1/_{1000000}$	3,2	5,2	18,8	22,0	34,0	34,8
	$^1/_{100000000}$	3,2	3,2	3,6	4,6	24,8	4,4
2,0	1	8,4	48,6	42,8	38,8	74,4	77,2
	$^1/_{10}$	12,4	51,6	37,6	10,0	69,2	58,0
	$^1/_{100}$	8,4	44,8	41,6	10,8	59,2	60,4
	$^1/_{10000}$	21,2	42,8	44,0	25,2	46,8	37,2
	$^1/_{1000000}$	12,4	39,2	40,4	30,4	7,2	7,0
	$^1/_{100000000}$	8,0	6,0	6,0	6,8	7,6	7,4

Die Impfmenge ist insofern von bestimmtem Einfluß, daß bei minimalen Impfmengen die Gefahr größer ist, daß eine jede Gärung unterbleibt. Differenzen, die sich im Sinne einer Lufteinwirkung verwerten ließen, sind nicht mit der nötigen Regelmäßigkeit vorhanden. Kommt zu der Verwendung einer peptonarmen Nährlösung noch eine etwas mangelhafte Virulenz der Kultur (ε A) hinzu, so genügen selbst große Impfmengen nicht, um in flacher Kulturschicht eine Säuerung einzuführen; erst der Luftabschluß bringt Erfolg. Bei Kultur ε B sind die Verhältnisse infolge der außergewöhnlich hohen Virulenz dieses Organismus wesentlich andere. Hier vermag selbst $^1/_{100000000}$ ccm Impfkultur in den stark vom Sauerstoff beeinflußten Proben in flacher Schicht die Milchsäuregärung in Fluß zu bringen. Wiederum spielt der Stickstoffgehalt des Nährbodens eine Rolle, indem ein kleiner N-Gehalt eine relativ geringe Impfmenge empfindlicher werden läßt. Die relativ hohen Säure-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

grade, die mit den größten Impfmengen erreicht wurden, verstehen sich von selbst, wenn man bedenkt, daß in diesen Proben durch Zusatz einer sehr hohen Keimzahl leichter und frühzeitiger die Gärung einsetzen konnte; übrigens zeigten auch diese Proben entsprechend vorzeitige Trübung. Die spärlich geimpften hätten ohne Zweifel die gleichen Säuregrade erreicht, wenn ihnen vom Beginn der eigentlichen Säuerung gleichviel Zeit bis zur Titrierung zur Verfügung gestanden hätte.

Es soll also eine kräftige, möglichst gleichmäßige Impfmenge verwendet werden, was wohl am zweckmäßigsten mit einer großen Platinöse geschieht. Die möglichen Grenzen in der Impfmenge sind dabei immer noch viel kleiner, als sie in vorliegendem Versuche angewandt wurden.

Es folgen noch die Resultate der in gleicher Weise mit Bacterium Güntheri angestellten Versuche:

Versuch No. 21.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte.
Impfkultur: Bact. Güntheri c, 13 Std. alte Peptonschottenkultur.
Bact. Güntheri d, 13 „ „ „
Versuchsansatz: wie Bac. casei ε
Versuchstemperatur: 30° C
++ Proben in flacher Schicht, + Proben in hoher Schicht, — Proben in hoher Schicht mit Anaërobenverschluß.

Impfmenge in Kubikcentimeter der Peptonschottenkultur	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ KOH pro 100 ccm Kultur nach 48 Stunden					
	Bact. Güntheri c			Bact. Güntheri d		
	++	+	—	++	+	—
1	20,0	21,6	21,2	20,4	22,0	21,2
$^1/_{10}$	20,4	21,6	21,2	20,4	21,6	21,2
$^1/_{100}$	20,0	21,4	21,2	20,0	22,0	21,2
$^1/_{10000}$	20,0	21,6	21,0	20,0	21,6	21,2
$^1/_{1000000}$	20,0	21,2	21,4	20,0	21,6	21,2
$^1/_{100000000}$	20,4	21,2	21,4	20,0	21,6	21,4

Für die gewöhnlich in den nachfolgenden Versuchen angewandte Versuchsdauer von 48 Stunden läßt sich für Bact. Güntheri kein Einfluß der Impfmenge konstatieren.

Resumé.

1) Für Bac. casei ε ist der Einfluß verschiedener Impfmengen insofern von Belang, als bei sehr spärlicher Aussaat derselben der eigentliche Beginn der Gärung zeitlich zurückgesetzt wird; es empfiehlt sich demnach, die Impfmenge reichlich und gleichmäßig zu bemessen.

2) Für Bact. Güntheri scheint die Impfmenge innerhalb der von uns angewandten Abstufungen 1 bis $^1/_{100000000}$ nicht von Bedeutung zu sein.

b) Einfluß verschiedener Temperaturen in Verbindung mit verschiedenem Stickstoffgehalt der Nährlösung.

Den Einfluß des Stickstoffgehaltes kennen wir bereits; daß auch die Temperatur auf die Beziehungen der Säuerungsintensität zum Luftsauerstoff von Einfluß ist, geht aus den Untersuchungen des I. Teiles hervor.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die folgenden Untersuchungen mit Berücksichtigung beider Faktoren anzustellen, war Bedürfnis, da bei noch so weitgehender Rücksichtnahme auf nur einen derselben die Resultate nur sehr einseitige Schlußfolgerungen zulassen konnten.

Versuch No. 22.

Nährboden: Versuch A 1 ‰ Peptonschotte; Säuregrad = 4,0
„ B 10 ‰ „ „ = 5,5
Impfkultur: Bac. casei ε A 20 Std. alte Peptonschottenkultur
Versuchsansatz: ++ Kultur in flacher Schicht (12 mm hoch)
\+ „ „ hoher „ (70 „ „)
— „ „ „ „ (70 „ „) mit Anaërobenverschluß.
Versuchsdauer: 48 Std.

Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ KOH pro 100 Kultur:

Probe No.	48,3° C						37,4° C					
	Nährboden 1 ‰ Pepton			Nährboden 10 ‰ Pepton			Nährboden 1 ‰ Pepton			Nährboden 10 ‰ Pepton		
	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—
1	6,9	16,8	16,4	21,2	29,6	28,8	10,8	16,4	20,8	22,4	44,8	48,0
2	8,0	17,2	16,4	18,2	30,0	28,6	9,6	15,8	22,0	22,2	45,0	48,2
3	7,6	17,2	16,8	21,6	29,6	28,8	10,4	17,2	21,8	22,0	48,0	48,0
4	7,8	17,0	16,8	21,4	29,4	28,6	10,4	17,2	21,8	22,6	48,0	47,2
5	7,6	17,2	17,0	21,2	29,2	28,8	—	—	—	—	—	—
6	7,4	17,4	17,0	21,4	29,4	28,8	—	—	—	—	—	—

Die gleichbehandelten Kulturen zeigen sich in der Säurebildung wieder sehr konstant; dies zwar etwas weniger bei 37,4° C, da zu dieser Temperatur ein Thermostat diente. Wegen vielen Oeffnens eines solchen können Differenzen von 1° C leicht entstehen, die sich dann bei der geringen Wärmeleitungsfähigkeit der Luft langsamer ausgleichen, als im Wasserbad; zudem haben wir oben gesehen, daß die Milchsäuregärung in ihrer Intensität ein scharfes Reagens auf kleine Temperaturunterschiede bietet. Der Stickstoffgehalt spielt wieder die bekannte Rolle, indem ein hoher die Säuerungsintensität erheblich steigert. Außerdem lassen die Zahlen vermuten, daß im letzteren Falle die Sauerstoffempfindlichkeit der Kultur herabgesetzt wird. Eine Steigerung der Gärgeschwindigkeit durch den Anaërobenverschluß im Gegensatz zu derjenigen der Kulturen in hoher Schicht ist nicht in allen Fällen zu konstatieren, hängt vielmehr sowohl von der Temperatur, als auch vom Stickstoffgehalt der Nährlösung ab. Im Gegensatz zu den Versuchen im I. Teil mit Rohkultur ist bei beiden Nährlösungen der Ausschlag bei 48° C nicht bedeutend größer als bei 37° C. Hingegen gilt für die flache Schicht einerseits und für die hohe andererseits, daß hier durchweg und teilweise große Differenzen existieren.

Es wäre noch eine ganze Reihe von bemerkenswerten Tatsachen aus diesen Zahlen herauszulesen, durch deren Diskussion wir jedoch den nachfolgenden Untersuchungen nicht vorgreifen möchten.

Resumé.

1) Unter genau gleichen Versuchsverhältnissen inbetreff der Zu-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sammensetzung des Nährbodens, der Temperatur und des Luftzutrittes (Schichthöhe) ist die Säuerungsintensität ein und desselben Organismus konstant (Bac. casei ε).

2) Die Steigerungsfähigkeit der Säuerungsintensität durch Schaffung anaërober Verhältnisse in den Kulturen von Bact. casei ε in hoher Schicht ist eine bedingte. Peptongehalt des Nährbodens, sowie die Versuchstemperatur scheinen in dieser Hinsicht eine bestimmte Rolle zu spielen.

Versuch No. 23.

Dieser Versuch soll die berührten Verhältnisse eingehender verfolgen und zwar in einem ersten Teil für Bact. Güntheri und in einem zweiten für Bac. casei ε.

I. Bact. Güntheri.

Nährboden: Peptonschotte mit 0, 1,0, 10,0 und 20,0 ‰ Peptonzusatz.
Impfkultur: Bact. Güntheri c 18 Std. alte Peptonschottenkultur.
Bact. Güntheri d 18 „ „ „
Versuchsansatz: ++ Kultur in flacher Schicht (12 mm hohe Kulturschicht)
\+ „ „ hoher „ (70 „ „ „)
— „ „ „ „ (70 „ „ „) mit Anaërobenverschluß
Versuchsdauer: 48 Std.
Versuchstemperatur: 30° C.

Tabelle X.

Einfluß des Stickstoffgehaltes des Nährbodens auf die Gärtätigkeit von Bacterium Güntheri a und b bei verschiedenen Temperaturen in verschieden hoher Kulturschicht.

Versuchs-organismen	Nährboden No.	Peptonzusatz zum Nährboden %	Säuregrad vor der Impfung	Säuregrad = Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Kultur nach 36 Stunden														
				45,0—46,5 46,2° C			42,0—44,0 42,4° C			Thermostat 36,0° C			34,0—36,0 34,2° C			Thermostat 30° C		
				++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—
Bact. Güntheri a	I	0	2,8	3,2	3,2	9,6	3,2	3,2	3,8	5,2	9,6	4,0	8,0	10,2	8,4	8,0	8,8	8,8
	II	0,1	3,2	3,2	3,2	4,2	3,6	4,0	3,8	10,8	10,4	10,2	12,0	12,5	12,8	13,2	14,4	14,6
	III	1,0	4,6	3,5	5,2	5,2	5,8	5,2	6,2	16,8	14,6	14,8	11,6	15,6	16,0	15,2	18,0	18,2
	IV	2,0	4,8	6,0	6,0	7,8	8,6	7,4	7,2	18,0	17,2	18,4	18,0	21,4	21,0	21,0	23,2	23,8
Bact. Güntheri b	I	0	2,8	3,6	3,2	3,2	3,4	3,2	3,2	4,4	4,0	8,0	6,4	10,0	8,4	8,8	10,0	9,6
	II	0,1	3,2	3,6	3,2	3,4	3,2	3,2	3,6	9,6	11,2	13,2	11,2	16,8	12,0	12,0	13,6	14,0
	III	1, 0	4,6	4,4	5,0	5,2	4,8	4,8	5,2	15,6	15,2	15,4	13,4	15,2	15,6	15,8	18,4	17,8
	IV	2 ,0	4,8	8,0	8,2	8,0	6,8	6,8	8,4	16,0	20,8	19,2	18,8	20,4	22,0	21,2	23,2	23,4

++ Kultur in flacher Schicht (12 mm Schichthöhe)
\+ „ „ hoher „ (70 „ „)
— „ „ „ „ (70 „ „) mit Anaërobenverschluß

Das Maximum für die Gärfunktion von Bact. Güntheri liegt unter 42° C; leider waren aus äußeren Gründen die Temperaturen unter 30° C sehr schwer konstant zu halten, weshalb der Versuch nicht auch auf diese ausgedehnt wurde. Bact. Güntheri zeigt sich weniger dankbar für Peptonreichtum des Nährbodens als Bac. casei ε. Zwischen flacher und hoher Schicht sind kleine Differenzen vorhanden, doch lassen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich keine diesbezüglichen Gesetzmäßigkeiten, noch ein Einfluß des Peptongehaltes oder der Temperatur aus jenen ableiten. Ebensowenig ist eine regelmäßige Wirkung des Anaërobenverschlusses aus den Resultaten zu ersehen; die tatsächlichen Differenzen sind mehr zufälliger Natur, in kleinen, nicht zu vermeidenden Unvollkommenheiten der technischen Einrichtung und auch in der Einwirkung unkontrollierbarer Faktoren begründete.

II. Bac. casei ε.

Nährboden A: Die nach dem Labzusatz ausgeschiedene Molke konnte leider erst am folgenden Tage verarbeitet werden. Dies geschah dann in üblicher Weise. Erst als vor der Versuchsanstellung die Säuregrade der daraus bereiteten Peptonschotten bestimmt wurden, stand fest, daß während der Bereitung eine Milchsäuregärung eingesetzt haben mußte. Wir titrierten nun alle Proben mit $\frac{n}{4}$ Kalilauge auf einen normalen Säuregrad. Es erhob sich dabei die Frage ob die bei der spontanen Gärung gebildeten Stoffwechselprodukte auf die Resultate einen Einfluß hätten.

Nährboden B: In normaler Weise hergestellt.

Impfkultur: Bac. casei ε A, für alle Temperaturen dieselben 20—24 Stunden alten Peptonschottenkulturen.

Versuchsansatz: Wie Bact. Güntheri ++, + und — Kulturen.

Versuchstemperatur: 52—20° C. Die für jede Temperatur bestimmten, die Nährlösung enthaltenden Gefäße wurden für sich in einem selbständigen Teilversuch nach der Dauer von 48 Stunden titriert bezw. auf Reinheit geprüft.

Impfung: Mit großer Platinöse.

Versuchsdauer: 48 Stunden.

(Siehe Tabelle XI und Fig. 8, 9, 10 u. 11 p. 244, 245 und 246.)

Die Differenz im Säuregrad zu Gunsten der + Proben im Gegensatz zu den ++ Proben ist bei allen Nährböden eine große; reichlicher Sauerstoffzutritt übt also unter allen Versuchsbedingungen eine die Säureproduktion hemmende Wirkung aus. Das Temperaturoptimum der säurebildenden Funktion liegt im allgemeinen um so höher, je mehr dem Sauerstoff der Zutritt gestattet ist, nämlich für — bei ca. 40° C, für + bei ca. 43° C und für ++ bei ca. 46° C. Bei den peptonreichsten Nährböden wird in hoher Schicht der höchste Säuregrad erreicht, ein Zeichen, daß bei reichlichem N-Gehalt durch Anordnung der Kultur in einer Flüssigkeitshöhe von ca. 60—70 mm diejenige optimale Sauerstoffspannung erreicht wird, die, wie wir in den folgenden Untersuchungen zeigen werden, eher eine fördernde Wirkung auf die Gärintensität ausübt als eine schädigende. Hieraus erklärt sich auch die weitere Tatsache, daß ein künstlich hergestellter Sauerstoffausschluß bei diesen — Proben nicht nur erfolglos bleibt gegenüber +, sondern sogar dieselbe in der Gärintensität gegenüber der letzteren zurückbleiben läßt. Ganz anders verhalten sich in dieser Hinsicht die peptonarmen Kulturen. Hier lassen nur die optimalen Temperaturen 44—40° C in hoher Schicht den Lufteinfluß für einigermaßen paralysiert erscheinen, während bei den höheren (52—46° C) sowohl wie besonders bei den niederen Temperaturen (36—28° C) der Anaërobenverschluß eine erhebliche Steigerung der Gärintensität auszulösen vermag. Es ist dies nur ein spezieller Fall der allgemeingültigen Regel, daß ein schädigender Faktor um so eher ertragen wird, je günstiger die übrigen Verhältnisse für den geschädigten Organismus gestaltet werden. Beide Nährböden (A und B) zeigen in allen diesen Punkten ziemlich genau dasselbe Verhalten. Daß die Säure-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XI.

Gärungsintensität von Bacillus casei ε (von Freudenreich) bei verschieden starkem Luftzutritt unter Berücksichtigung verschiedenen Peptongehaltes der Nährlösung sowie verschiedener Temperaturen.

Säuregrad = Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 Kultur.

Nährboden No.	Säuregrad beim Ansatz	Pepton	51,0—52,0 51,4° C			40,0—49,0 48,7° C			45,5—46,0 45,9° C			42,5—44,0 43,4° C			40,0—41,5 40,4° C			35,5 - 36,5 36,0° C			31,5—32,4 32,3° C			28,0—29,0 28,5° C			19,5—20,4 20,1° C		
		‰	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—
A	4,8	0	5,2	6,0	5,5	6,0	5,4	10,4	8,0	8,4	15,6	5,6	13,6	15,4	7,6	11,6	17,2	6,0	6,5	12,0	5,2	6,0	12,0	6,0	6,0	6,0	4,4	4,8	4,8
A	7,2	2	7,2	8,8	8,8	10,4	16,0	18,8	8,8	16,8	23,6	8,8	20,2	26,0	8,0	19,2	28,4	9,2	10,0	24,4	8,8	10,0	28,0	8,8	8,8	10,0	7,2	7,6	8,0
A	7,2	10	8,8	12,0	10,8	11,2	22,8	28,0	9,2	32,8	35,2	8,8	38,4	38,2	10,8	37,2	39,2	8,4	22,8	29,2	8,8	19,2	26,8	9,0	13,2	19,2	7,6	8,4	8,3
A	9,6	20	11,2	15,2	17,6	16,8	29,6	30,0	20,4	42,0	36,0	12,2	45,6	42,0	12,8	50,4	46,4	12,0	40,2	36,0	12,0	23,2	40,0	12,0	19,2	24,0	9,6	10,0	11,2
B	7,2	0	7,2	7,0	8,0	7,2	8,0	16,0	8,0	20,4	28,0	8,0	28,4	31,6	8,4	26,0	28,4	8,0	12,4	26,4	7,6	10,4	22,4	8,8	13,2	12,4	6,4	6,8	7,2
B	8,8	2	7,6	10,8	9,6	8,8	9,6	17,2	8,8	25,0	33,6	8,0	39,4	36,0	8,0	32,8	34,6	9,6	12,4	30,2	9,2	11,2	27,2	10,0	11,2	12,0	8,0	8,0	8,8
B	10,0	10	9,6	12,8	12,8	12,2	27,6	27,2	10,4	36,8	34,8	10,6	40,4	40,0	14,4	45,6	40,4	11,2	35,6	35,2	12,2	38,4	34,6	12,0	21,6	23,2	9,2	10,4	9,6
B	12,0	20	11,6	15,2	16,8	14,8	30,4	32,0	17,2	40,0	38,4	13,6	45,4	41,6	17,6	55,2	45,8	14,1	44,6	43,2	15,6	39,6	40,4	14,0	31,6	29,2	10,8	12,0	12,4

++ Kultur in flacher Schicht (11 mm hoch)
\+ „ „ hoher „ (60 „ „)
— „ „ „ „ (60 „ „) mit Anaërobenverschluß

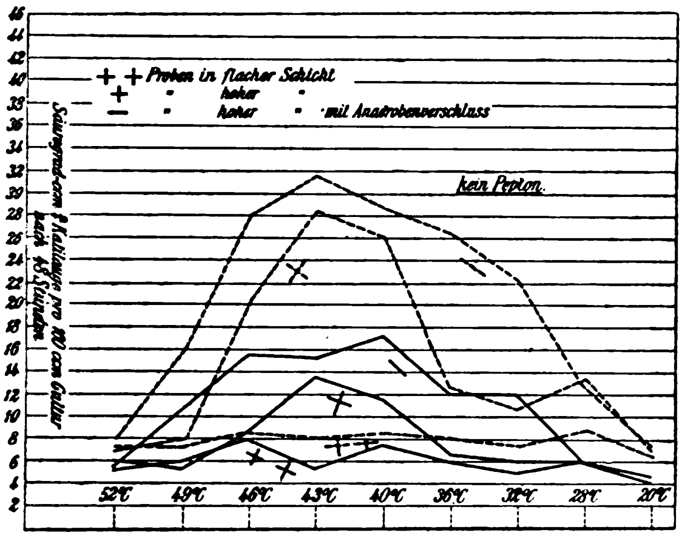


Fig. 8.

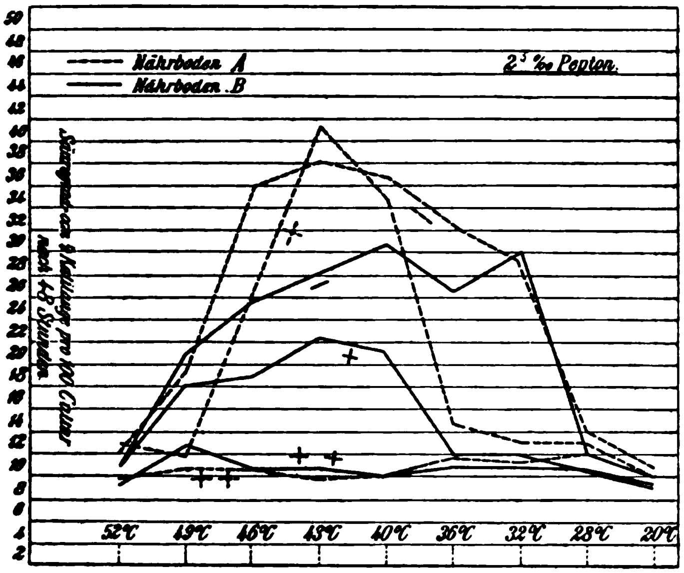


Fig. 9[1]).

grade bei A für die peptonarmen Kulturen durchweg niederere Zahlen aufweisen als die entsprechenden des Nährbodens B, hat seinen Grund darin, daß die bei der vorgenommenen Neutralisation von A eingetretene Fällung zur Hauptsache offenbar aus unlöslich gewordenen N-haltigen Substanzen bestand, was gerade für die peptonarmen Kulturen einen unersetzbaren Verlust bedeuten mußte.

Um die Gegensätze in dem hier diskutierten Verhalten zwischen Bacterium Güntheri einerseits und Bacillus casei ε andererseits deutlicher zu illustrieren, möchten wir noch die Resultate eines folgenden

1) Die Zeichenerklärungen der Fig. 8 und 9 gelten auch für Fig. 10 und 11.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

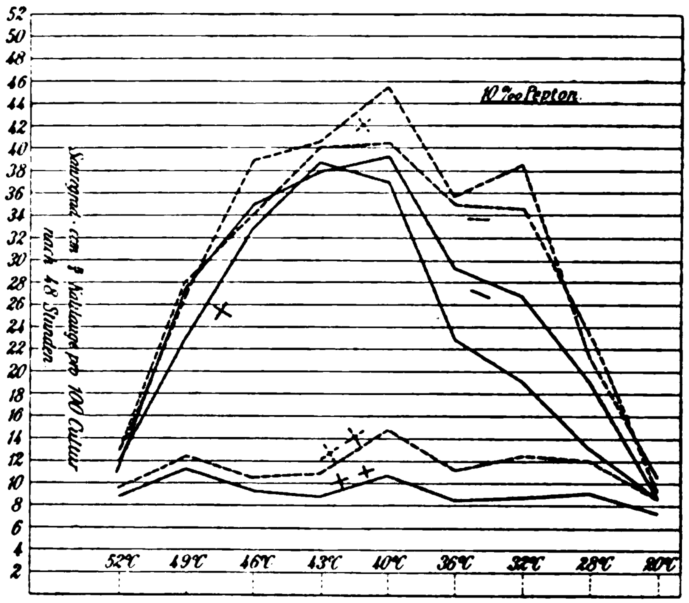


Fig. 10.

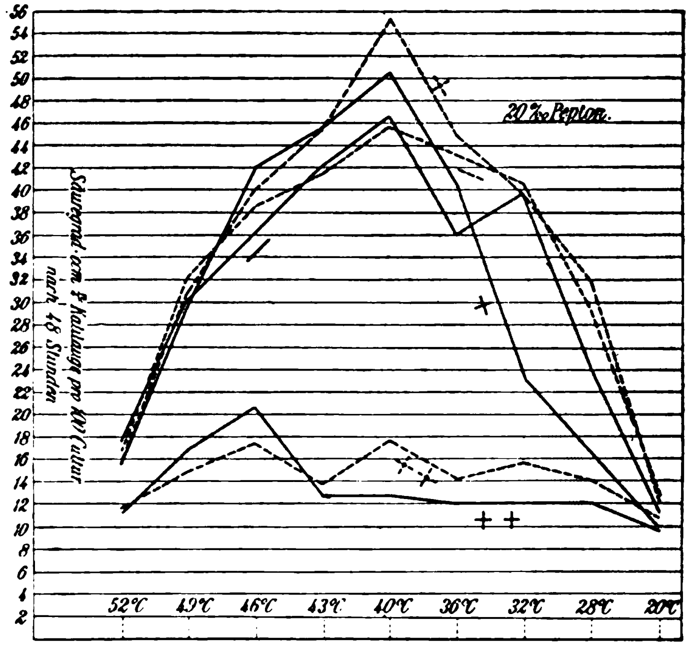


Fig. 11.

Versuches mitteilen, der auf je zwei verschiedene Stämme der beiden Bakterienarten, wie auch auf verschiedene Temperaturen Rücksicht nimmt.

Versuch No. 24.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad frisch 7,2.
Impfkulturen: 26 Stunden alte Peptonschottenkulturen.
Versuchsanlage: Geht aus der Tabelle XII hervor.
Versuchstemperaturen: Die Summe der für jede Temperatur bestimmten Kulturproben wurde als Teilversuch behandelt, für sich geimpft und nach 48 Stunden auf Säuregrad resp. Reinheit geprüft.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XII.
Säuregrad nach 48 Stunden.

Versuchsorganismus	46° C			37° C			30° C			20° C		
	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	+
Bac. casei ε A	10,0	39,2	35,6	23,2	26,8	36,4	10,4	20,0	32,0	7,2	7,2	7,0
Bac. casei ε A	—	—	—	28,0	32,8	36,8	20,0	26,0	31,6	—	—	—
Bac. casei ε B	10,8	32,0	32,0	34,0	40,8	46,8	34,4	41,6	42,4	7,2	8,8	9,2
Bac. casei ε B	—	—	—	32,6	42,4	46,0	36,0	42,0	42,4	—	—	—
Bact. Güntheri b	7,2	7,2	7,2	21,6	24,0	24,0	22,4	24,0	23,2	22,8	23,2	23,2
Bact. Güntheri b	—	—	—	22,0	24,0	23,8	22,4	24,0	23,2	—	—	—
Bact. Güntheri c	7,2	7,2	7,2	22,0	24,0	22,3	22,4	24,0	23,6	23,3	24,0	23.6
Bact. Güntheri c	—	—	—	21,8	23,2	22,2	22,0	24,2	23,6	—	—	—

Der Unterschied im Verhalten der beiden Bakterienarten ist klar, und eine Diskussion dieser Resultate scheint unnötig, da sie nur eine Bestätigung der oben auseinandergesetzten Verhältnisse bieten würde. Auffallen könnten noch die für die Temperaturen 37—30° C gefundenen hohen Säuregrade bei Bac. casei ε B überhaupt und speziell für die Kulturen in flacher Schicht. Es ist dies auf die ausnahmsweise hohe Virulenz des betreffenden Organismus im allgemeinen zurückzuführen und im besonderen auf ein vielleicht mit dieser im Zusammenhang stehendes ausgeprägtes Vermögen, sich dem schädigenden Einfluß des Luftsauerstoffes zu entziehen.

Resumé.

1) Bei den verwendeten Versuchsorganismen Bact. Güntheri einerseits und Bac. casei ε andererseits besteht bezüglich des Verhaltens der Säuerungsintensität bei Kultur in flacher Schicht einerseits und in hoher Schicht andererseits ein prinzipieller Unterschied.

2) Die Gärintensität von Bact. Güntheri äußert nur schwache Empfindlichkeit gegenüber dem in unserer Kultur in flacher Schicht (11 mm Höhe) zur Wirkung kommenden Luftsauerstoffe, wobei Temperatur und Stickstoffgehalt des Nährbodens keinen bestimmbaren Einfluß zu haben scheinen.

3) Bac. casei ε zeigt große Empfindlichkeit gegenüber der Wirkung größerer Mengen Luftsauerstoffes. Die schädigende Wirkung des letzteren auf die Säuerungsintensität dieses Organismus macht sich um so mehr geltend, je mehr sich die Versuchstemperatur vom Optimum entfernt (40—42° C) und je stickstoffärmer der Nährboden ist.

c) Verfolgung des Gärverlaufs bei Luftzutritt resp. Luftausschluß in 8-stündigen Prüfungsintervallen.

Aus den Versuchen auf p. 241 geht hervor, daß die Säuerungsintensität für ein und denselben Organismus bei gleichbleibenden Verhältnissen für gleiche Zeiträume konstante Werte ergibt.

Gestützt auf diese Tatsache, ist es uns möglich, den zeitlichen Verlauf der Gärung etwas näher zu studieren. Soweit als möglich, sollte auch auf Nährböden mit verschiedenen Peptongehalten, sowie auf verschiedene Temperaturen Bedacht genommen werden. Weil der sauerstoffempfindlichere Bac. casei ε in dieser Versuchsrichtung mehr Erfolg versprach, wurde dieser Organismus in der Folge etwas mehr berücksichtigt. Auch diese Versuchsreihen gliedern sich für Bac. casei ε in 6 und für Bact. Güntheri in 3 Teilversuche, die je für sich angesetzt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und behandelt wurden. Wir stellen der Uebersicht halber die für die gleichen Kulturarten geltenden Versuchsresultate zu je einer Tabelle zusammen.

Versuch No. 25.

Nährboden: Siehe Tabelle XIII.
Impfkulturen: Bac. casei ε A und B, beides 20—24 Stunden alte Peptonschottenkulturen.
Versuchsanlage: Es wurden so viel Proben der betreffenden Kategorie (++, +, —) geimpft und angesetzt. als voraussichtlich Säuregrade zu bestimmen waren; nach bestimmten Zeitabschnitten kam je eine Probe zur Titrierung resp. Prüfung auf Reinheit.
Versuchstemperatur: Siehe Tabelle.
Versuchsdauer: Siehe Tabelle.
Impfmenge: Große Platinöse.

Tabelle XIII.
Verlauf der durch Bacillus casei ε hervorgerufenen Milchsäuregärung mit und ohne Sauerstoffzutritt.

	I			II			III			IV			V			VI		
Nährboden:	0,2 % Peptonschotte			2,0 % Peptonschotte			2,0 % Peptonschotte			0,2 % Peptonschotte			2,0 % Peptonschotte			0,2 % Peptonschotte		
Impfkultur:	Bac. casei ε A			Bac. casei ε A			Bac. casei ε A			Bac. casei ε B			Bac. casei ε B			Bac. casei ε B		
Versuchstemp.:	42° C			42° C			35° C			42° C			42° C			30° C		
Säuregrad = ccm $\frac{n}{4}$ KOH pro 100 ccm Kultur nach Stunden	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—	++	+	—
0	4,4	4,4	4,4	9,2	9,2	9,2	8,0	8,0	8,0	3,4	3,4	3,4	6,4	6,4	6,4	4,0	4,0	4,0
8	4,4	4,4	4,4	9,2	9,8	9,8	8,8	8,0	8,4	4,0	4,0	4,0	8,8	8,4	9,6	4,0	4,0	4,0
16	4,8	6,0	6,0	12,6	25,2	26,4	8,8	10,0	10,8	4,8	5,2	8,4	9,6	20,8	27,6	4,0	4,0	4,4
24	4,8	6,0	7,8	12,4	30,0	29,2	11,6	16,8	18,4	4,4	8,0	18,4	9,6	30,4	28,0	4,0	4,4	5,2
32	5,2	6,0	10,4	12,4	35,2	33,2	11,4	22,4	21,6	4,8	22,4	32,4	9,4	35,2	33,2	4,0	4,4	5,2
40	5,2	6,4	14,0	12,8	37,6	35,2	11,2	24,0	24,8	4,8	29,2	40,4	9,4	41,2	36,4	4,0	4,4	6,0
48	4,8	5,8	28,0	12,8	42,0	36,0	11,6	27,6	25,2	4,8	40,0	42,4	9,6	43,2	38,8	4,0	4,4	6,4
56	4,8	5,8	28,4	12,4	40,4	38,4	11,6	27,6	26,6	4,8	45,2	44,8	9,6	44,4	38,6	4,0	4,8	7,6
64	4,8	6,0	31,4	12,2	48,4	37,6	12,0	30,4	29,2	4,8	49,6	44,8	9,6	47,2	40,0	4,4	5,2	10,8
72	4,8	6,0	32,0	12,4	49,2	40,0	10,6	30,4	30,0	4,8	52,0	48,0	9,4	49,6	41,6	4,4	5,2	13,6
80	4,8	6,0	34,0	12,4	48,4	40,8	11,6	31,6	30,8	4,8	54,3	48,4	9,6	51,6	45,2	4,4	4,8	16,4
88	4,8	6,0	34,8	12,4	49,6	40,8	11,4	32,4	33,4	4,8	54,8	48,8	8,8	51,6	43,2	4,4	5,2	18,2
96	4,8	6,0	36,4	12,8	42,4	39,6	11,8	32,0	33,6	4,8	—	—	—	52,0	44,0	—	—	—

++ Kultur in flacher Schicht (12 mm Schichthöhe)
\+ „ „ hoher „ (70 „ „)
— „ „ „ „ (70 „) anaërob verschlossen.

Verlauf der Milchsäuregärung von Bacillus casei ε A und B.

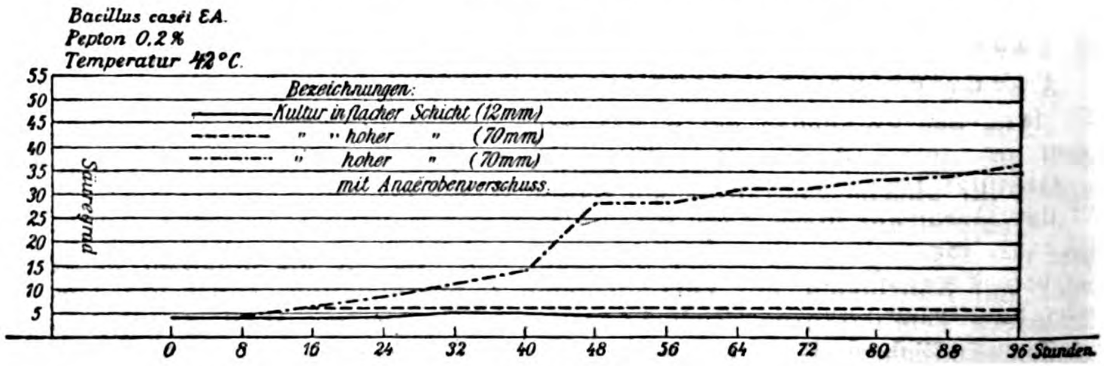


Fig. 12[1]).

1) Die in Fig. 12 notierten Erklärungen gelten auch für die Fig. 13 bis 17.

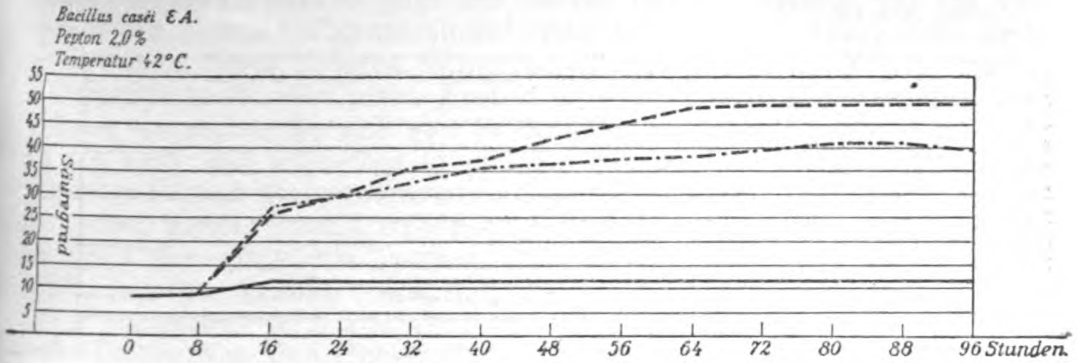


Fig. 13.

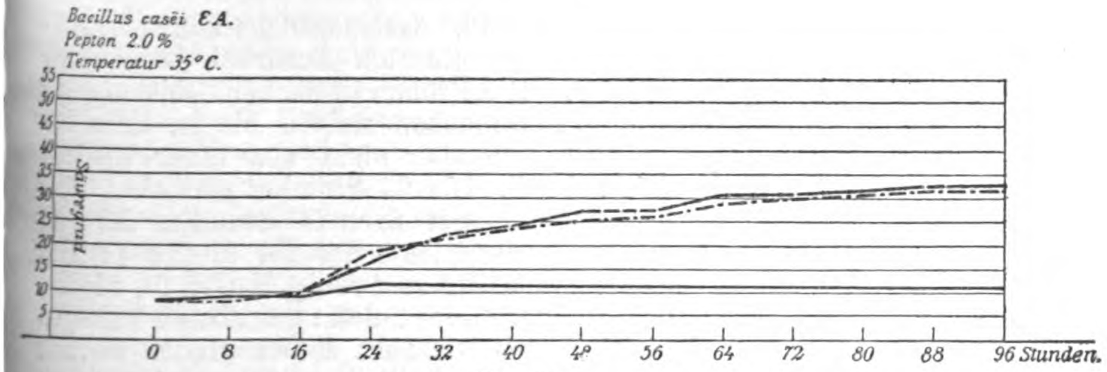


Fig. 14.

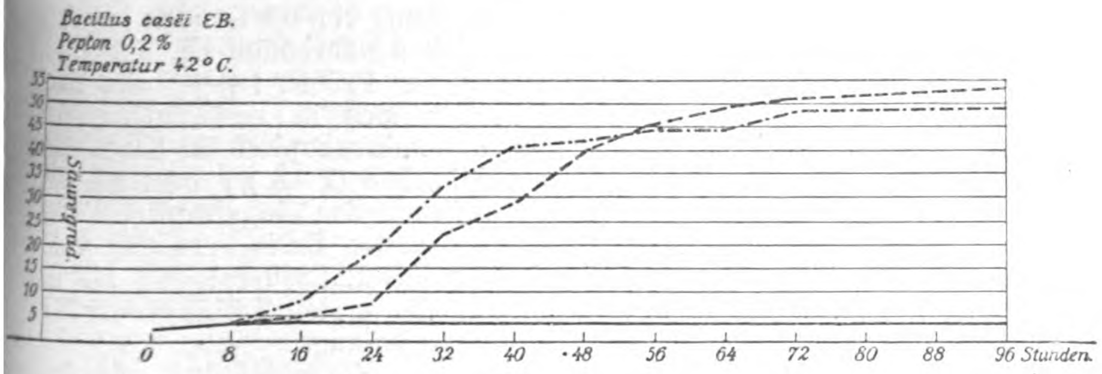


Fig. 15.

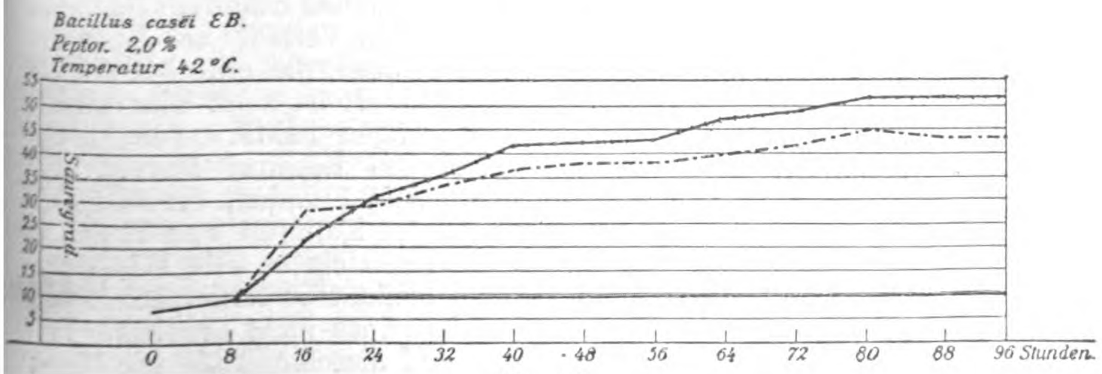


Fig. 16.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

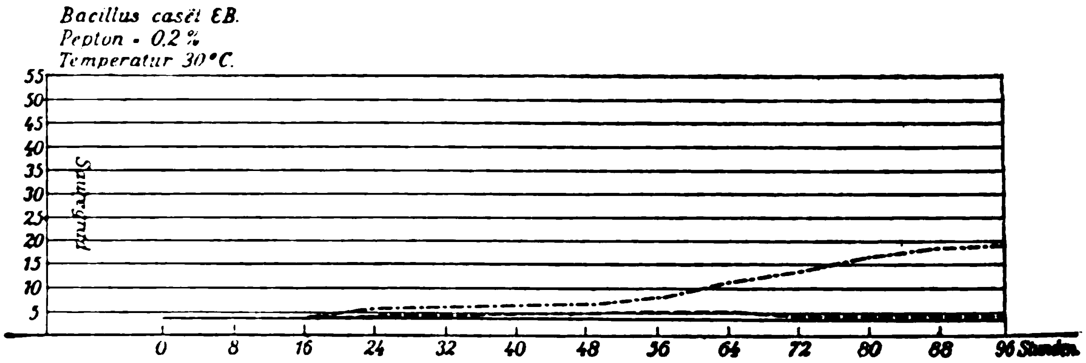


Fig. 17.

Die Zahlen liefern ein deutliches Bild. Gelegentliche Unregelmäßigkeiten waren zu erwarten, stören aber die zum Ausdruck kommenden Gesetzmäßigkeiten in keiner Weise. Die Proben in flacher Schicht (++) lassen ihren Säuregrad in allen Teilversuchen steigen bis zu einer bestimmten, relativ niedrigen Grenze, die aber nicht von einer einzigen Probe überschritten wird. Diese ist in 16—24 Stunden erreicht. Eine Ausnahme bildet Versuch VI, wo dies erst nach 56 Stunden der Fall ist, was keineswegs befremden kann angesichts der für diesen Versuch herrschenden ungünstigsten Kulturverhältnisse (wenig N-Gehalt, niedere Temperatur). In Versuch III, wo einer dieser zuletzt genannten Faktoren günstiger gestaltet ist (N-Gehalt), finden wir auch sofort wieder normale Verhältnisse. Die relative Steigerungsfähigkeit der Gärintensität dieser Proben (++) richtet sich nach dem Peptongehalt des Nährbodens, indem für 0,2 Proz. Pepton nur eine Säuerungserhöhung von 0,8 Graden gegeben wird, während diejenigen für die peptonreichen Nährböden ca. 3,0 Grade beträgt. Die makroskopische Kontrolle dieser Proben (++) ließ nach 16 Stunden eine deutliche, beim Bewegen sich in seidenglänzenden Wolken fortwälzende Trübung erkennen, die, mikroskopisch im hängenden Tropfen betrachtet, aus relativ kurzen Stäbchen (2—3 μ) bestand. Es hatte also tatsächlich eine kräftige Vermehrung der eingeimpften Zellen stattgefunden, die indessen auf einer ungesunden Basis beruhte, welch letztere durch die schädigende Einwirkung des Luftsauerstoffes auf die morphologische Entwickelung, speziell auf die ersten Teilungsvorgänge der eingeimpften Zellen geschaffen worden sein mag.

Die Gärung in hoher Schicht (+) ist unter Voraussetzung günstiger Verhältnisse nach ca. 16 Stunden kräftig im Gange und erreicht ihr Maximum in der von uns zur Beobachtung gewählten Stundenzahl nicht. Immerhin ist im Hinblick auf den schleppenden Verlauf am Ende der Versuchsdauer schon nach 64 Stunden anzunehmen, daß eine bedeutende Erhöhung nicht mehr stattfindet. Bemerkenswert ist auch hier wieder, wie das Vorhandensein irgend eines ungünstigen Faktors (ungünstige Temperatur, geringer Peptongehalt) sofort das Resultat ändert. Bei IV + beginnt die eigentliche Gärung erst bei 52 Stunden, erreicht aber ihren Höhepunkt mit jenen allseitig begünstigten Kulturen von II und V, weil die Optimaltemperatur gewählt ist. Anders steht es mit III + (ungünstige Temperatur). Die Gärung ist und bleibt eine schleichende und der normale Höhepunkt ist nach 96 Stunden noch nicht erreicht. I + gehört in Betreff der Versuchsbedingungen auf dieselbe Stufe wie IV +; das Resultat der Gärung ist aber ein anderes; nach einem schwachen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anlauf bis zur 16. Stunde folgt der gleiche latente Zustand, wie ihn die ++ Proben bieten. Eigentümlicherweise ist bei I + dieser Stillstand erst bei einem etwas höheren Säuregrad eingetreten als bei I ++. Nach 4 Stunden hatte in sämtlichen Proben I + jene oben näher bezeichnete Trübung eingesetzt, die sich von 16 Stunden an in sämtlichen derselben bis zum Ende des Versuches in gleicher Stärke hielt. Mit dem makroskopischen Befund übereinstimmend, fanden sich wieder fast ausschließlich die kurzen, meist einzeln stehenden Stäbchen vor. Der Umstand, daß hier trotz der günstigen Temperatur der latente Zustand nicht überwunden werden konnte, wird diesfalls in der geringen Virulenz der Kultur zu suchen sein, die, wie wir oben schon beobachten konnten, neben Temperatur und Stickstoffgehalt des Nährbodens für diese Verhältnisse eine Rolle spielen kann.

Die Proben mit Anaërobenverschluß, die — Proben, zeigen besonders für die allseitig begünstigten Kulturen ähnliches Verhalten wie die + Proben der entsprechenden Kulturen. Tritt ein begünstigender Faktor zurück, so wird auch hier der Gärverlauf entsprechend abgeändert. Nie aber, selbst nicht beim Zurücktreten beider hier in Rücksicht gezogener begünstigender Momente, wird ein latenter Zustand in der Kultur konstatiert, sondern auch in diesem Falle (VI —) ist eine immerhin später einsetzende, schleppend verlaufende Gärtätigkeit ermöglicht. Die Zellformen dieser Proben sind im allgemeinen länger (3—7 μ) und kräftiger und zeigen Neigung zur Bildung längerer Ketten.

Vergleichen wir nun noch den Gärverlauf der + und — Proben miteinander, so machen wir dabei eine besonders wertvolle Beobachtung. Es betrifft dies speziell die Teilversuche II, IV und V. In den ersten Stunden scheint der Gärverlauf beider Proben (+ und —) zugleich einzusetzen; schon nach 16 Stunden bleibt die + Gärung zurück, um aber mehr oder weniger schnell die — Gärung wieder einzuholen und, was besonders bemerkenswert ist, sogar zu überflügeln. Hervorragend ausgeprägt ist dieses Verhalten in Versuch IV. In beiden Fällen, wo sowohl optimale Temperatur als auch der peptonreiche Nährboden zur Anwendung kommen, also bei II und V, findet dieses Ueberholen der — Säuerung, durch die + Gärung schon nach 24 Stunden statt; bei Teilversuch III, der in der Temperatur benachteiligt ist, nach 48 Stunden und bei IV mit dem ungünstigen peptonarmen Nährboden erst nach 56 Stunden, und wenn wir weiter sehen, so lehrt uns der unter dem Einflusse der beiden ungünstigen Faktoren stehende Versuch VI, daß ein Einholen der — durch die + Gärung vollständig unterbleibt. Jetzt verstehen wir auch die in Tabelle XI niedergelegte Beobachtung, daß für die peptonreichsten Nährböden die mit Anaërobenverschluß versehenen Proben im Vergleich zu den entsprechenden in hoher Schicht sogar einen tieferen Säuregrad aufwiesen; auch begreifen wir jetzt, warum bei niederem N-Gehalt eher noch eine Differenz zu Gunsten der anaërob verschlossenen Probe erhalten wurde. Nach unseren hier vorliegenden Resultaten hatte nämlich nach 48 Stunden, der Versuchsdauer jener Proben, bei den peptonreichen Nährböden die + Gärung die — Gärung schon überholt (II, III, V), bei den peptonarmen noch nicht einmal eingeholt.

Oben wurde schon darauf hingewiesen, daß eine hochgradige Einwirkung des Sauerstoffes, wie sie bei den Proben in flacher Schicht ++ beabsichtigt ist, wohl eine Vermehrung der eingeimpften Zellen, für einen bestimmten N-Gehalt des Nährbodens und eine bestimmte Temperatur hingegen das Ueberschreiten eines gewissen Säuregrades nicht gestattete.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Einfluß des Sauerstoffes bewirkt eine scharf von den gewöhnlichen Wachstumsformen unterscheidbare Zellgestalt, welche zweifellos aufs engste mit der Leistungsdepression zusammenhängt.

Für die Kulturproben in hoher Schicht ging hervor, daß, je günstiger die Verhältnisse der Versuchsanstellung sind (optimale Temperatur, hoher N-Gehalt des Nährbodens, hohe Virulenz der Kultur), desto früher eine kräftige Gärung eintritt, welche relativ bald ihren Höhepunkt erreicht. Daß selbst in diesen + Proben von einer schädigenden Sauerstoffwirkung gesprochen werden darf, beweist die anfängliche Depression gegenüber den — Proben in den Reihen mit nachträglich höchster Entfaltung der Gärungsenergie und sodann der Umstand, daß das Ausschalten irgend einer der genannten günstigen Kulturfaktoren im stande ist, den Gärverlauf in der Weise umzugestalten, daß einem relativ späten Einsatz der eigentlichen Gärung ein mehr oder weniger schleppender Fortgang folgte; oder daß sogar beim Fehlen zweier dieser Kulturmomente der für diese + Proben relativ beschränkte Luftzutritt genügt, um die Bildung jener eigentümlichen Kurzstäbchen hervorzurufen und die Gärung selbst vollständig zu unterdrücken. So ließen z. B. je 2 Proben der Versuchsreihen I + und VI +, die wir nach 32 Stunden (vom Ansatz gerechnet) mit dem Anaërobenverschluß versahen, wobei VI + zudem der Optimaltemperatur ausgesetzt wurde, nach 6 Tagen keine Erholung der Kultur erkennen. In den übrigen + Kulturen führt der relativ beschränkte Sauerstoffeinfluß nicht nur zum Beginn der Gärung, sondern er wirkt im Sinne kleiner Giftmengen auf die Kultur ein; es ist hier die schädigende Wirkung des Sauerstoffes zur Reizwirkung geworden, welch letzterer die Kulturen die ungewöhnlich gesteigerte Säuerungsintensität verdanken.

Die Proben mit Anaërobenverschluß lassen deutlich erkennen, daß ein rechtzeitiger Sauerstoffentzug eine frühzeitige kräftige Säuerung einleitet in allen Fällen, wo die Kulturverhältnisse allseitig günstige sind. Selbst bei Ausschaltung beider hier berücksichtigten Begünstigungsmomente ist der Eintritt einer Säuerung durch den Sauerstoffausschluß gesichert; allerdings vermag letzterer die Wirkung des Fehlenden nicht zu ersetzen; der Gärverlauf setzt in diesem Falle spät ein und bleibt schleppend (VI —). Die Verhältnisse für eine gedeihliche Entwickelung der Milchsäuregärung sind also bei Sauerstoffausschluß von Anfang an gegeben.

Ein Vergleich des Gärverlaufes der + und — Proben ergibt im besonderen folgendes:

Bei den + Proben offenbart sich die schädigende Wirkung des Sauerstoffes anfänglich in einem mehr oder weniger unsteten Verhalten der Gärung; diese Wirkung ist groß genug, um besonders bei Vorherrschen ungünstiger Verhältnisse die Gärung dieser + Proben gegenüber derjenigen der — Proben stark zurückbleiben zu lassen; nun setzt aber in den + Proben die Giftwirkung dieser relativ kleinen Sauerstoffmengen im Sinne eines Reizes ein, der zu einer Steigerung der Säuerungsintensität führt und damit den Säuerungsverlauf dieser + Proben denjenigen der — Proben zu überholen veranlaßt.

Der Vollständigkeit halber lassen wir hier noch die Ergebnisse der in gleicher Weise mit Bact. Güntheri angestellten Versuche folgen.

Versuch No. 26.

Nährboden: 1 Proz. Peptonschotte. Säuregrad frisch 6,0.

Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Impfkulturen: Bact. Güntheri b; 13 Stunden alte Peptonschottenkultur.
" " c; 13 " " "
Versuchsansatz: Wie beim Versuch No. 23; im übrigen aus Tabelle XIV ersichtlich.
Versuchstemperatur: 30° C.
Impfmenge: Große Platinöse.

Tabelle XIV.

Säuregrad bestimmt nach Stunden	ccm $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Kultur					
	Bact. Güntheri c			Bact. Güntheri d		
	++	+	—	++	+	—
9	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
12	16,4	15,6	16,0	17,6	18,0	17,2
24	18,8	19,2	18,8	20,0	19,6	18,8
36	19,2	20,2	19,6	20,0	20,4	20,4
48	18,0	20,4	20,0	20,0	20,8	20,8
60	18,4	21,2	20,4	20,1	20,4	20,4
8 Tage	17,6	20,4	20,0	19,2	20,4	20,0
12 "	17,2	20,0	19,6	19,2	19,6	19,2
20 "	17,2	20,0	19,2	18,8	19,6	19,2
30 "	17,6	20,0	19,2	19,0	20,0	19,2
50 "	17,6	20,4	19,6	18,8	20,0	19,4
120 "	17,6	20,0	19,6	18,8	20,0	19,2

Wie vorauszusehen war, zeigen sich die für Bac. casei ε oben besprochenen Verhältnisse hier weniger deutlich. Einmal geht schon aus früheren Untersuchungen hervor, daß dieser Organismus eine geringere Empfindlichkeit gegenüber dem Sauerstoff äußert. Dann ist hier die für Bact. Güntheri sehr konstante oberste Säuerungsgrenze schon in kurzer Zeit erreicht, so daß die gedachten Differenzen im Gärverlauf verschwindend klein werden mußten und andererseits nur wenig Spielraum zum Ausgleich derselben gegeben ist. Wenn nicht die unzweideutige Darstellung der fraglichen Verhältnisse für Bac. casei ε vorausgegangen wäre, hätten wir keineswegs die Berechtigung, aus den kleinen Differenzen der vorliegenden Zahlen Schlüsse zu ziehen. In beiden Fällen sind nach 12 Stunden die am stärksten dem Sauerstoff ausgesetzten ++ Proben den mit Anaërobenverschluß versehenen voraus; für Güntheri d gilt dies auch noch nach 24 Stunden.

Resumé.

1) Es besteht ein deutlicher Unterschied im Gärverlauf von Bacillus casei ε einerseits und demjenigen von Bacterium Güntheri andererseits.

2) Ein hemmender Einfluß des Luftsauerstoffes auf den ersten Teil des Gärverlaufes für Bacillus casei ε steht außer Zweifel.

3) Optimaltemperatur und hoher N-Gehalt der Nährlösung vermögen diesen Einfluß bis zu einem bestimmten Grade zu kompensieren, während Ausschaltung dieser begünstigenden Momente, vereint mit der Wirkung des Sauerstoffes, im stande sind, die einmal eingetretene Säuerung zum Stillstand zu bringen. Bei genügender Erhöhung des Luftzutrittes vermögen selbst die günstigsten Kulturbedingungen nicht, den einmal eingetretenen latenten Zustand aufzuheben, d. h. die in Stillstand geratene Gärung nach Maßgabe der gegebenen Verhältnisse zur Vollendung zu bringen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Ein bestimmter Grad der Sauerstoffeinwirkung, wie er bei den Kulturen in gewisser Schichthöhe gegeben ist, kann bei gleichzeitig vorhandenen günstigen Versuchsbedingungen die Kultur befähigen, jenen auf der Wirkung eines anfänglichen Sauerstoffüberschusses beruhenden latenten Zustand im Laufe der Gärung zu überwinden und damit die Veranlagung zu einer die Säuerung bei Luftabschluß weit übertreffenden Gärungsintensität zu gewinnen. Die jetzt nicht mehr schädlichen Sauerstoffmengen scheinen in diesem Falle als Reizmittel zu wirken.

5. Für Bacterium Güntheri scheinen die Verhältnisse ähnlich zu liegen, wie für Bacillus casei ε; nur treten sie, infolge der hohen Empfindlichkeit dieses Organismus gegenüber Milchsäure weniger deutlich hervor.

5. Milchsäurebakterien in Mischkultur mit obligat aëroben Organismen.

Der fördernde Einfluß streng aërober Organismen auf das Wachstum obligat anaërober Bakterien ist schon von Pasteur nachgewiesen und es bildet diese Erscheinung ein Hauptmoment zur Erklärung der so allgemeinen Verbreitung streng sauerstofffeindlicher Organismen.

Auch über die Förderung der Milchsäuregärung durch Vergesellschaftung der sie veranlassenden Bakterien mit luftliebenden Organismen liegen Literaturangaben vor; hier handelt es sich gewöhnlich um eine Peptonisierung für die Milchsäurebakterien schwer zugänglicher Stickstoffsubstanzen von Seite der Aëroben, wie die Arbeiten von Kayser (6), Marshal (22), O. Jensen (23) nachweisen.

In letzter Zeit hat Thöni (16) gezeigt, daß speziell durch eine aus sogenanntem „Naturlab“ isolierte Mycoderma Reinkulturen von Bacterium lactis acidi (Bacterium Güntheri), Bacillus casei ε und Bacterium coli im Wachstum kräftig gefördert werden. Verfasser gibt der Vermutung Raum, es möchte die durch Mycoderma an der Oberfläche der Kulturflüssigkeit gebildete Pilzdecke und der dadurch geschaffene Luftabschluß, sowie der Umstand, daß dieser Kahmpilz als Säurezehrer die der Milchsäuregärung schädliche Milchsäure teilweise unschädlich mache, eine Erklärung für die genannte Erscheinung bieten.

Was unsere diesbezüglichen Untersuchungen anbelangt, so konnten wir eine solche durch Mycoderma hervorgerufene fördernde Wirkung ebenfalls nachweisen. Hier ein Beispiel:

Versuch No. 27.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad = 7,0.

Impfkulturen: Bacillus casei ε F (20 Stunden alte Kultur).
Mycoderma Rütti: Oberflächenkultur in Milchzuckeragarplatten.

Versuchstemperatur: 41—42°.

Versuchsansatz: Die Proben wurden zuerst mit Mycoderma und dann mit Bacillus casei ε geimpft; die Kontrollen erhielten nur letzteren Organismus; dabei wurden sowohl Proben in hoher Schicht mit (+) wie auch ohne (—) Sauerstoffzutritt angesetzt.

Versuchsdauer: 42 Stunden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Probe No.	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ KOH p. 100 Kultur			
	Bacillus casei ε F plus Mycoderma		Bacillus casei ε F	
	+	—	+	—
1	58,0	60,0	50,8	48,0
2	60,0	60,0	50,8	49,2
3	60,0	60,4	49,6	48,4

Wie die Tabelle zeigt, wird mit künstlichem Luftausschluß ohne den Kahmpilz nicht jener Säuregrad erreicht, wie in Mischkultur; demnach kann die sauerstoffentziehende Wirkung des Pilzes kaum als alleinige Ursache der festgestellten höheren Säureproduktion verantwortlich gemacht werden. Uebrigens geht auch aus unseren vorhergehenden Versuchen hervor, daß sowohl für Bacterium Güntheri, als auch für den sauerstoffempfindlicheren Bacillus casei ε bei einer Flüssigkeitshöhe von 70 mm und einer Oberfläche von ca. 4,0 qcm dasjenige Minimum von Luftzutritt schon erreicht ist, welches nicht nur eine absichtlich geschaffene Sauerstoffabsorption erfolglos bleiben läßt, sondern sogar auf die Intensität der Gärung fördernd zu wirken scheint. Zudem werden wir weiter unten noch zeigen können, daß das Maximum der Säuerungsenergie sogar bei einer bedeutend kleineren Schichthöhe der Kultur (44 mm) schon erreicht wird. Es würde also auch bei den von Thöni angewandten 300 ccm fassenden Kulturkolben eine durch irgendwelches Agens hervorgerufene bloße Sauerstoffabsorption, wie z. B. durch Mycoderma mindestens nicht förderlich für die Milchsäuregärung gewesen sein. Vielleicht kommt gerade im Gegenteil diesem streng sauerstoffliebenden Pilz in seiner Eigenschaft als Sauerstoffspeicherer das Vermögen zu, diesen Sauerstoff in jenen minimalen Mengen an den Milchsäureerreger zu übertragen und damit im Sinne der oben konstatierten Reizwirkung eine Steigerung der Säuerungsintensität herbeizuführen.

Die säurezehrende Tätigkeit der Mycoderma könnte fernerhin nur zur Erklärung einer Depression der Säurebildung in säuernden Flüssigkeiten herangezogen werden, welche Depression dem Säurebildner höchstens erlaubt, mit seiner Tätigkeit zur Ausgleichung des entstandenen Säureverlustes einzugreifen, aber für ihn keinen Grund bilden kann, in der Säureproduktion eine gewisse, durch die sonstigen Entwickelungsbedingungen gegebene Grenze zu überschreiten.

Viel mehr für sich hat die Annahme, die Mycodermazelle scheide irgend welche Stoffwechselprodukte aus (proteolytisches Ferment), die das Wachstum der Milchsäurebakterien in hohem Maße fördern.

Daß auch Bacillus mesentericus eine stark fördernde Wirkung auf die Milchsäuregärung ausübt, soll der folgende Versuch zeigen.

(Schluß folgt.)

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Zur Charakteristik einer neuen, aus sterilisierter Dosenmilch isolierten Bakterie „Plectridium novum".

[Arbeit aus der bakteriologischen Abteilung der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. H. Weigmann.]

Von Dr. **Harald Huss.**

Mit 1 Tafel.

Daß die sterilisierte Milch des öffentlichen Handels in Bezug auf ihre Keimfreiheit nicht immer dem entspricht, was man von einer mit dieser Bezeichnung belegten Milch erwartet, ist bekanntlich seitens verschiedener Forscher nachgewiesen worden. Die Pasteurisierung der Milch bezweckt bekanntermaßen in erster Linie das Unschädlichmachen der pathogenen Mikroorganismen, während die Sterilisation etwas weiter geht, indem sie sich die Vernichtung aller entwickelungsfähigen Keime als Ziel setzt. Von einer als steril verkauften Milch hat man also das Recht zu verlangen, daß sie keimfrei sei. Bei der Verwendung peinlich sauber gewonnener Milch zur „Fabrikation" der sterilen Ware ist es den Fabrikanten meistens ein leichtes, dieser Forderung nachzukommen, da eine unter den nötigen Kautelen gemolkene Milch nur selten schwer abtötbare Sporenarten beherbergt. Etwas heikler stellt sich die Sterilisationsaufgabe aber, wenn die Milch durch Bakterien infiziert worden ist, die gegen Hitze hochresistente Sporen bilden. Die anaëroben Bakterien z. B. sind ja, wie bekannt, auf diesem letzteren Gebiet speziell leistungsfähig.

Die Sporen von gewissen Bakterien vermögen eine Erhitzungsdauer bei 100° C bis zu 20 Stunden auszuhalten, ohne dabei ihre Keimfähigkeit zu verlieren.

Hinsichtlich der Qualität der sterilisierten Milch von bakteriologisch-hygienischem Gesichtspunkte aus betrachtet, erwähne ich hier als Beispiel die Resultate einiger von Weber (8) ausgeführter Untersuchungen. Weber analysierte eine große Zahl (150) Flaschen sterilisierter Milch aus verschiedenen Milchwirtschaften und kam bei dieser Untersuchung zu dem Ergebnis, daß „die bisher gebräuchlichen Milchsterilisierungsverfahren nicht im stande sind, mit absoluter Sicherheit keimfreie Milch zu liefern". In den von ihm analysierten Milchproben traf er Bakterien an, deren Sporen, an Seidenfäden eingetrocknet, durch bis zu 6-stündiges Erhitzen im Dampftopf auch nicht abgetötet wurden. Eine große Zahl der so resistente Sporen bildenden Bakterien besitzen peptonisierende Eigenschaften, zersetzen also Milch unter Auflösung des Kaseins. Bei dieser fauligen Zersetzung wird auch, nach den Angaben Webers, Schwefelwasserstoff erzeugt. Die sogenannten giftigen, peptonisierenden Bakterien Flügges kommen, nach den Ermittelungen Webers, in der sterilisierten Milch des Handels vor, aber „wie es scheint, nicht sehr häufig". „Diese Flüggeschen peptonisierenden Bakterien dürften", hebt Weber zum Schluß hervor, „dem Säuglingsorganismus wohl weniger durch die Giftigkeit ihrer Bakterienleiber, als durch ihre Fähigkeit, rasch und energisch Eiweißfäulnis zu erzeugen, gefährlich werden".

Von den von Flügge 1894 in Milch gefundenen Bakterien (4) nenne ich einen sporenbildenden Bacillus, der sich gegen Hitze äußerst resistent zeigte. Die in der Flüggeschen Arbeit mit No. XII, bei

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Migula (7) mit dem Namen Bacillus terminalis belegte Bakterie erzeugt Sporen, die „durch 5-stündiges Erhitzen (bei 100° C!) noch *nicht*, durch 6-stündiges noch nicht sicher abgetötet werden".

Sehr widerstandsfähige Sporen bildet auch das Paraplectrum foetidum (9), das Milch zur Gerinnung bringt und nachher das Koagulum wieder peptonisiert.

Die hohe Resistenzfähigkeit der Sporen vom Bacillus Globigii ist ja auch eine bekannte Tatsache.

Unter den von Meyer und seinen Schülern untersuchten Bakterien gibt es viele Arten, die gegen Hitze sehr resistente Sporen produzieren. Als Beispiel hierfür teile ich die Angaben Blaus (1) für einige daraufhin geprüfte Bakterien mit.

Die Sporen von

Bacillus	Robur u. B. lactis	sterben	nach	29— 38	Min.	Erhitzung	bei	100° C
„	subtilis	„	„	175— 180	„	„	„	„
„	robustus, calidus und cylindricus	„	„	450— 480	„	„	„	„
„	tostus	„	„	1140—1200	„	„	„	„

Es steht somit fest, daß eine Milch, die man den Konsumenten als sterilisierte Milch vorsetzen will, einer sehr lange dauernden Erhitzung[1]) bei 100° C ausgesetzt werden muß, falls der Lieferant derselben für alle Fälle sicher sein will, sich der Vorspiegelung falscher Tatsachen nicht schuldig zu machen.

Ueber das in Frage stehende Thema schreibt endlich Burri (2): „Handelt es sich um Herstellung einer Dauermilch für überseeischen Gebrauch, für Reisen u. s. w., so greife man zur Sterilisierung auf rationeller Basis, d. h. unter Anwendung eines alle Keime vernichtenden Erhitzungsverfahrens auf eine möglichst aseptisch gewonnene[2]) Milch".

Will man die Sterilität der Milch ohne Anwendung maximaler Temperaturen erreichen, die ja nicht gerade den Nährwert dieses wichtigen Nahrungsmittels erhöhen, so ist man gezwungen, sich chemischer Konservierungsmittel zu bedienen. Da aber die chemische Sterilisation, so z. B. das Buddesierungsverfahren, nicht überall erlaubt ist, da weiter die Gewinnung einer einwandsfreien Milch auf aseptischem Wege aus praktischen Gründen einer fernen Zukunft gehört, so wird man sich mit der bis jetzt gebräuchlichsten Methode, der Erhitzung der Milch, noch begnügen müssen.

Daß diese Methode nicht immer, wie gesagt, ihren Zweck erfüllt, dazu soll diese Mitteilung einen Beitrag liefern.

Die im folgenden von mir in morphologischer und biologischer Hinsicht charakterisierte Bakterie habe ich in einer der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel zwecks Untersuchung gesandten, sterilisierten Milch gefunden. Es sollte die Ursache zu dem in der letzten Zeit (Anfang dieses Jahres) oft beobachteten „Umschlagen" der auf Blechdosen gefüllten und sterilisierten Milch festgestellt werden. In dem den Dosen beigefügten Schreiben spricht der Fabrikant die Vermutung aus, daß der Klempner zum Löten der Dosen säurehaltiges Lötwasser benutzt habe und daß dadurch die Gerinnung der Milch verursacht sei.

1) Bekanntlich zeigen die Bakteriensporen eine viel höhere Resistenzfähigkeit beim Erhitzen in Milch als bei der Anwendung von Wasser als Medium.

2) Von mir kursiviert.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es standen uns für die Untersuchung eine größere Anzahl Dosen zur Verfügung, die alle zuerst auf den „Klang“ geprüft wurden. In denjenigen Dosen, welche beim Schütteln einen hellen Klang hören ließen, wurde bei dem Oeffnen eine in physikalischer Beziehung unveränderte Milch gefunden. Die Dosen aber, die einen dumpfen Klang beim Schütteln abgaben, enthielten zersetzte Milch.

Bei der chemischen Analyse der geronnenen Proben konnten keine fremden Säuren nachgewiesen werden. Der Urheber zu dem Umschlagen der Milch mußte also unter den Mikroorganismen gesucht werden.

Zum Vergleich wurden auch die unveränderten Milchproben bakteriologisch untersucht. Sie zeigten sich alle steril.

Auf den mit der geronnenen Milch geimpften Dextrose-Agar- und Dextrose-Gelatine-Platten entwickelten sich Bakterienkolonieen, die alle dasselbe makroskopische und mikroskopische Aussehen besaßen. Bei der weiteren Untersuchung wurde auch konstatiert, daß die Kolonieen der verschiedenen Platten in morphologischer und physiologischer Beziehung identisch waren. Es lag somit in allen verdorbenen Milchdosen dieselbe Bakterie in Reinkultur vor. Da dieselbe Milch in kurzer Zeit zum Gerinnen bringt und außerdem gegen Hitze relativ sehr resistente Sporen bildet, war also konstatiert, daß die Gerinnung der Milch durch diese Bakterie verursacht worden war.

Was den Geschmack der Milchproben betrifft, ist zu bemerken, daß die unveränderte Milch einen süßen Geschmack besaß; die geronnene Milch schmeckte dagegen säuerlich und schwach bitter. (Obs.! Die aus der Milch isolierte Bakterie produziert proteolytische Enzyme!)

Im folgenden gebe ich eine kurze Charakteristik der Bakterie, die mit keiner der bis jetzt beschriebenen, Plektridien bildenden Bacillen identifiziert werden konnte.

Morphologie und Entwickelungsgeschichte.

Die Form der Bakterie ist die eines Langstäbchens, das je nach dem Nährboden abgerundete oder mehr oder weniger scharf abgeschnittene Enden besitzt. Die Größenmaße derselben, auf mit Karbolfuchsin gefärbte und in Kanadabalsam eingeschlossene, auf Agar bei 37° C gezüchtete Individuen bezogen, sind die folgenden:

Länge 2,10—7 μ
Breite 0,6—0,7 μ.

Die Bakterie ist, wie gesagt, sporenbildend. Die Sporen haben eine mehr oder weniger langgestreckte, ellipsoidische Gestalt. Dieselben sind etwa 0,9—1,05 μ breit und 1,30—1,75 μ lang.

Zum Studium der Entwickelungsgeschichte der Bakterien wurden Agarstrichkulturen mit abgekochtem Sporenmaterial angelegt. Die mikroskopische Analyse der bei 20° bezw. 37° C gehaltenen Kulturen geschah wie bei meiner Untersuchung des Bacillus esterificans (5).

20 Stunden nach dem Impfen der Agarröhrchen besteht die bei 20° C gewachsene Kultur fast ausschließlich aus sterilen Schwärmoidien. Nur vereinzelte Individuen stehen in dem Anfangsstadium der Sporulation. Die Enden der Zellen sind recht scharf abgeschnitten.

Der bei 37° C gehaltene, 20 Stunden alte Strich hat folgende Zusammensetzung: viele sporulierende Stäbchen, vereinzelte Sporangien. Längere, unsegmentierte Fäden sind nicht vorhanden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach 40 Stunden ist das mikroskopische Bild der resp. Kulturen wesentlich verändert.

Der bei 20° gezüchtete Strich enthält nur eine kleinere Zahl freier Sporen; sporulierende Zellen und Sporangien sind reichlich vertreten.

In den bei 37° C gewachsenen Kulturen ist die Entwickelung vorgeschrittener. Es bestehen diese aus einem Gemisch von sterilen und sporulierenden Stäbchen, viele Sporangien und Sporen. Die nicht sporulierenden Oidien sind in Minderzahl vorhanden. Längere, unsegmentierte Fäden wurden nur selten beobachtet.

In älteren Kulturen treffen wir fast ausschließlich Sporen an.

Die Keimung der Spore erfolgt wie bei Bacillus esterificans (5) polar. Die jungen Oidien sind mehr oder weniger lebhaft bewegliche Schwärmer. Sobald die Sporenbildung einsetzt, scheint die Bewegung im allgemeinen aufzuhören. Wenigstens konnte ich nur selten unter den sporulierenden Zellen bewegliche Individuen beobachten.

Die Entwickelung eines Oidiums zum Sporangium verläuft wie bei Bacillus esterificans (5). Nur tritt bei dem Plectridium novum die polare Anschwellung des sporenbildenden Stäbchens später auf als bei Bacillus esterificans. Das reife Sporangium besitzt Keulen- oder, wie Fischer (3) sagt, Plectridium-Form. Die Spitze des sporentragenden Endes ist stumpf; hier ist also ein wichtiger, morphologischer Unterschied vom Bacillus esterificans zu verzeichnen. Der sporentragende Pol des Sporangiums von B. esterificans läuft nämlich in einen spitzen Kegel aus.

Die Spore ist in gefärbten Präparaten von einem hellen Hof an beiden Enden umgeben. Die Längenwände derselben liegen der Sporenmembran dicht angepreßt. In der stumpfen Spitze des spermatragenden Poles findet sich immer eine kleine Ansammlung von Plasma, das sich kräftig färbt. Wie die Sporangien von B. esterificans zeigen auch die von Plectridium novum eine leichte Anschwellung des sporenlosen Endes.

Die reifen Sporangien sind von sehr wechselnder Länge; auch ist die keulenförmige Anschwellung derselben je nach der Größe der Spore mehr oder weniger auffallend stark.

Färbbarkeit.

1) Karbolfuchsin: leicht und gut färbbar.

2) Nach Gram (6): Das Plasma der Oidien und der sporulierenden Stäbchen hält nur Spuren des Gentianavioletts zurück. Es erscheint somit schwach blau tingiert, weshalb man das Plectridium novum als gramnegativ bezeichnen kann. Sowohl die allerjüngsten, terminal lokalisierten Sporenanlagen wie auch die reifen Sporen sind grampositiv.

Sauerstoffbedürfnis.

In Stickstoffatmosphäre entwickelt sich die Bakterie ebenso gut wie bei aërober Züchtung. Weder die Sporenkeimung noch die Sporulation wird durch Sauerstoffabwesenheit verhindert; ebensowenig übt diese einen Einfluß auf die Morphologie der sterilen Stadien des Pilzes aus. Abnorm gebaute Formen, so wie ich sie in anaëroben Kulturen von B. esterificans beobachtete, konnten hier nicht nachgewiesen werden.

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die Kardinalpunkte der Temperatur für das Wachstum.

Zur Feststellung der Kardinalpunkte der Temperatur für das Wachstum wurden Agarstrichkulturen benutzt. Die Versuche ergaben folgende Resultate:

Bei 55° C: kein Wachstum.
„ 48° C: schwaches, kaum merkbares Wachstum.
„ 42° C: gutes Wachstum; schleierartig dünner Belag.
„ 37° C: sehr gutes Wachstum.
„ 30° C: gutes, aber nicht ganz so kräftiges Wachstum wie bei 37° C.
„ 20° C: gutes Wachstum; Belag nicht so ausgebreitet wie bei 42° C.
„ 15° C: gutes, aber langsames Wachstum.
Das Minimum wurde nicht festgestellt.

Ansprüche an die Zusammensetzung des Nährsubstrats.

Gegenüber dem relativ guten Gedeihen der Bakterie auf alkalischen und neutralen Nährböden ist das Wachstum derselben auf sauer reagierenden Substraten äußerst kümmerlich. Auf sauren Nährböden bildet das Plectridium novum auch verschiedene Involutionsformen, wie aus der späteren Beschreibung der Molkenagar- und Kartoffelkulturen hervorgeht. Trotzdem daß ein sauer reagierendes Substrat sich also für eine ausgiebige Vermehrung der Bakterie ungeeignet zeigt, keimen die Sporen derselben fast ebenso schnell auf Molkenagar wie auf alkalischem Agar. Die in den ersten Stunden entstehenden Stäbchen besitzen auch ein ganz normales Aussehen.

Die Resistenzfähigkeit der Sporen in kochendem Wasser.

Zur Bestimmung, innerhalb welcher Zeit die Sporen des Plectridium novum durch Erhitzung bei 100° C abgetötet werden, wurden 1,5—2 ccm steriles Wasser in Reagenzgläschen mit alter Agarkultur beschickt und in kochendem Wasser eine bis 120 Minuten gehalten. Nach dem Erhitzen wurde die Aufschwemmung unter der Wasserleitung rasch abgekühlt und mit ihr Agarröhrchen mit schräger Agarfläche geimpft. Es zeigte sich, daß eine Erhitzungsdauer von 75 Minuten genügt, um alle Sporen zum Absterben zu bringen. Aus den Versuchen ging weiter hervor, daß die Sporen des Plectridium novum wie bei einigen anderen daraufhin geprüften Bakterienarten von verschiedener Widerstandsfähigkeit sind. Schon durch eine nur 15 Min. dauernde Erhitzung werden einzelne Sporen getötet. Die Keimfähigkeit der erhitzten Sporen nimmt von hier ab mit verlängerter Erhitzungsdauer immer mehr zu. Von Sporen, die eine Stunde erhitzt waren, keimten nur vereinzelte aus. Mit 75—120 Minuten bei 100° C erhitzten Sporen geimpfte Agarröhrchen blieben steril.

Hier sei noch darauf hingewiesen, daß eine Wassermenge von 1,5 bis 2 ccm in einem Reagenzglas von 18 mm Weite erst nach 55–60 Sekunden die Temperatur des kochenden Wassers annimmt.

Beweglichkeit.

Die Beweglichkeit des Plectridium novum ist von kurzer Dauer; sie scheint mit beginnender Sporulation aufzuhören. Dieselbe äußert sich in nicht allzu lebhaften geradlinigen Vorwärtsbewegungen und Rotationsbewegungen um den einen Pol oder um die Querachse der Zelle.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Schwärmoidien der Bakterien sind mit peritrich angeordneten Geißeln versehen. Mitunter beobachtete ich auch in der Sporulation recht weit vorgeschrittene Individuen, die noch vereinzelte Geißeln am Körper besaßen. Ich habe trotzdem bei solchen Zellen niemals Beweglichkeit beobachten können.

Kulturelle Charaktere.

Bezüglich der Zusammensetzung der hier benutzten Nährböden verweise ich auf eine frühere Arbeit (5), wo dieselbe angegeben ist.

Gelatineplatte. Temperatur: 18—20° C.

1. Natürliche Größe.

a) Oberflächenkolonieen (Phot. 1): Nach 4 Tagen farblose, bei durchfallendem Licht klare, schwach gelblich schimmernde, äußerst kleine, aus dem Substrat herausragende Kügelchen, die am 5. Tage in einer untiefen Einsenkung der Gelatine liegen. Von Verflüssigung des Nährbodens ist noch nichts zu sehen. Die Kolonieen haben insofern ihr Aussehen verändert, als sie jetzt bei durchfallendem Lichte trübe und weißlich-gelb erscheinen. Nach 7—10 Tagen begegnen dieselben uns als mehr oder weniger ausgebreitete, blaugraue, am Rande zerrissene und lappige, einen kleineren oder größeren Teil der kreisrunden Verflüssigungsschalen ausfüllende Belege. Am 15. Tage sind die Kolonieen etwa 1,5 mm groß und nehmen fast die ganze Verflüssigungsschale in Anspruch. Die letzteren haben eine kreisrunde, uhrenglasähnliche Form und sind scharf von der festen Gelatine getrennt. Die in ihnen liegenden grauen Scheiben besitzen einen stark zerrissenen und gelappten Rand. Auf schwarzer Unterlage zeigen die Kolonieen ein weißliches Zentrum, das von einer grauen Zone umgeben ist. Die außerhalb dieser gelegene Randpartie ist wieder mehr weißlich gefärbt.

b) Tiefenkolonieen: Erst am 4. Tage als kleine, grauweiße Pünktchen sichtbar. In der Tiefe findet keine Verflüssigung statt, sobald aber die Tiefenkolonieen an der Oberfläche angelangt sind, fängt die langsame Verflüssigung der Gelatine an. Die kugeligen Kolonieen kommen dadurch in einer seichten Vertiefung zu liegen. Allmählich geht das Aussehen in dasjenige der Oberflächenkolonieen über.

2. Bei 90-facher Vergrößerung.

a) Oberflächenkolonieen (Phot. 4): Auf dichtbesäten Platten beobachtet man die Kolonieen teils als rundliche, teils als unregelmäßige, schlingenartige Belege, die fast farblos oder ganz schwach gelblich sind. Hier und da finden sich unter den unregelmäßig geformten Kolonieen solche vor, die einem keimenden Pollenkorn nicht unähnlich sind, indem von dem rundlichen oder ovalen Belag eine lange, hin und her gewundene Schlinge ausgeht.

Die Kolonieen der dünnbesäten, 3 Tage alten Platten stellen kreisrunde oder rundliche, farblose, lichtbrechende, punktierte und gleichzeitig fein gestrichelte Belege dar, die mitunter mit kürzeren oder längeren, schlingenförmigen Ausläufern versehen sind. Der äußere Charakter der Belage hat oft eine gewisse Aehnlichkeit mit dem der Colikolonieen, nur sind die Ausbuchtungen des Randes meistens geringfügig; außerdem ist das Lichtbrechungsvermögen der Kolonieen ein stärkeres als dasjenige der Colikolonieen auf Gelatine. Der Rand der Plectridium-Kolonieen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erscheint auf diesem Stadium schwärzlich, was mit der beginnenden Verflüssigung des Substrats zusammenhängt. Am 7.—10. Tage sind die Kolonieen gelblich-weiß, mitunter fast silberglänzend; der Rand derselben ist stark ausgebuchtet, gelappt und mit oft recht tiefen Einschnitten versehen. Hin und wieder nehmen die Kolonieen eine weinblattähnliche Gestalt an. Das Innere ist grobpunktiert und in verschiedenen Richtungen gestrichelt. Das mikroskopische Bild einer 15-tägigen Oberflächenkolonie entspricht dem makroskopischen Aussehen desselben. Die ganze Kolonie ist körnig gezeichnet. Das bräunliche gelbe Zentrum besteht aus dichterer Bakterienmasse, die darauffolgende Zone ist hellgelb; der Rand teilt sich in einen inneren, dunklen, fast schwärzlichen, wellig verlaufenden und einen äußeren, farblosen, gelappten Teil.

b) Tiefenkolonieen (Phot. 2): Kreisrunde oder rundliche, gelbliche, später bräunliche, körnige und fein gestrichelte Kolonieen, die in älteren Stadien meistens konzentrisch gezeichnet werden. Der Rand derselben ist glatt. In demselben Augenblick, wo die Oberfläche des Substrats erreicht wird, fängt der Rand an, zerrissen und feinlappig zu werden; dann und wann zeigt er tiefe, radial verlaufende Einschnitte. Bei tiefer Einstellung des Objektivs nimmt man auch eine strahlige, vom Zentrum der Kolonie ausgehende Zeichnung wahr, die wohl auf radial verlaufende Kanälchen in der Bakterienmasse zurückzuführen ist. Die konzentrische Zeichnung bleibt auch nach angefangener Verflüssigung recht lange erhalten. Wie aus der Phot. 3 zu ersehen ist, besitzen die kleinen, eben an der Oberfläche angelangten Tiefkolonieen einer dichtbesäten Platte ein ganz anderes Aussehen als die im Substrat noch eingebetteten.

Gelatinestich. Temperatur 18—20° C.

Zwei Tage nach den Anlagen der Kultur ist ein geringer grauer, fast matter Belag um die Stichöffnung herum entstanden. Der Stichkanal besitzt das Aussehen eines bläulich-grauen Fadens. Etwa am 4. oder 5. Tage nimmt man wahr, daß eine ganz kleine, napfförmige Einsenkung an die Stelle der feinen Stichöffnung getreten ist. Im ganzen Stichkanal ist das Wachstum gut. Zu dieser Zeit ist noch keine flüssige Gelatine im Stichkanal zu sehen. Erst am 6. Tage, wo der oberste Teil des Stiches die Gestalt eines schmalen Trichters hat, beobachtet man an dem spitzen Boden des Trichters eine geringfügige Ansammlung von schwach getrübter, verflüssigter Gelatine. Zum größten Teil ist der mit einer ganz kreisrunden, ca. 3 mm im Durchmesser fassenden Oeffnung versehene Trichter leer, klar und anscheinend bakterienfrei. Der Boden desselben enthält dagegen gelblich-weiße Bakterienmasse.

Am 10. Tage mißt der Stichkanal in der Stichöffnung etwa 5 mm im Diameter; diese Weite behält er bis zu 1 cm Tiefe, um dann ganz langsam nach unten zu abzunehmen. Der Stich hat also zu dieser Zeit die Form eines lang ausgezogenen Trichters, welcher bis zum Boden des Kulturglases flüssige Gelatine enthält. Die flüssige Gelatine ist streckenweise ganz klar, dazwischen durch wolkige, grauweiße Bakterienmasse getrübt. Bei der Stichöffnung ist die Flüssigkeit stark trübe; eine Haut wird niemals gebildet. Die Stichkultur bekommt jetzt allmählich die Gestalt eines Scheidetrichters, welcher scharf von der festen Gelatine getrennt bleibt. Am Boden des Kanals sammeln sich immer größere Mengen Bakterienmasse an. In einer einmonatigen Kultur mißt die untere Hälfte des Stiches an allen Stellen ungefähr 2—3 mm im Diameter. Erst nach 5 Wochen erreicht die mittlere Partie des oberen,

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glockenförmigen Teiles des Stiches durch Verflüssigung die Glaswand. Die Konsistenz der verflüssigten Gelatine ist dickflüssig. Nach dem Verlauf von etwa 2 Monaten ist die ganze Gelatinesäule verflüssigt.

Gelatinestrich. Temp. 18—20° C.

Wenn Gelatine mit abgekochtem Sporenmaterial geimpft wird, dauert es etwa 48 Stunden, bis ein deutlich sichtbarer Strich zum Vorschein tritt. Der Belag ist sehr dünn, schleierartig, grau.

Schon am 3. Tage sinkt der Belag infolge anfangender Verflüssigung des Substrats in die Gelatine hinein, dabei eine in den folgenden Tagen immer tiefer werdende Rinne bildend.

Agarplatte. Temperatur 37° C.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Kleinere Mitteilungen über Nitrifikationsmikroben.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im Kaiserl. Institut für experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Von **W. Omelianski.**

IV [1]).

Zur Färbung der Nitrifikationsmikroben.

Einer der nitrifizierenden Mikroben, nämlich der Nitritbildner, färbt sich bekanntlich ausgezeichnet mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen, während der andere, der Nitratbildner, für sie fast ganz unempfänglich ist, so daß, um ihn aufzudecken, man zu den für die Sporenfärbung angewendeten forzierten Mitteln seine Zuflucht nehmen muß. S. Winogradsky empfiehlt das gewöhnliche, bis zur Dampfentwickelung erwärmte Ziehlsche Karbolfuchsin mit nachfolgendem Abspülen in einer leicht angesäuerten Alkohollösung. Bei einer so eingreifenden Färbemethode ist es notwendig, die mehr oder weniger bedeutende Umlagerung des Protoplasmas innerhalb des zarten vegetativen Bakterienleibes und die darin statthabende Bildung von Artefakten, welche die normale morphologische Charakteristik der gegebenen Art erschweren, in Betracht zu ziehen. Im Handbuch der technischen Mykologie (Bd. III, p. 172) schildert Winogradsky folgendermaßen die Morphologie des Nitrobakters:

„Nach dem Färben mit Karbolfuchsin unter Erwärmen und darauf folgendem Waschen mit verdünntem, angesäuertem Alkohol erscheinen die Zellchen stäbchenförmig, am einen Ende oder an beiden verjüngt, unter 1 μ lang und etwa 0,3—0,4 μ dick. Die Färbung ist dabei keine gleichmäßige; nur der mittlere Teil der Stäbchen erscheint gefärbt, die zugespitzten Enden dagegen sind fast farblos. Bei Anwendung von Löfflerschem alkalischen Methylenblau färben sich nur die in den Zellchen (meistens in der Einzahl) vorhandenen Körnchen kräftig; der übrige Teil des Zellleibes ist so blaß, daß man mit Mühe die Konturen der Stäbchen um die Körnchen herum sucht. . . . Durch halbstündiges Erwärmen in Gentianaviolettlösung gelingt es, die Körperchen auszu-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 785; Bd. IX. 1902. p. 63 u. 113.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

färben und nun innerhalb der farblos gebliebenen Kapsel die winzigen, schwach gefärbten Stäbchen zu unterscheiden."

Aus dieser Beschreibung ist ersichtlich, daß verschiedene Färbungsmethoden verschiedene Bilder liefern, und daß in allen Fällen der Verdacht vollberechtigt ist, der Unterschied in der Färbung sei jedesmal als Resultat der zur Bearbeitung der Präparate angewendeten Methode zu betrachten. Der Mangel irgend einer zufriedenstellenden Methode zur Färbung des Nitratbildners veranlaßte uns, zu diesem Zwecke einige neue Methoden auszuprobieren, wobei wir als unerläßliche Bedingung erachteten, das Erhitzen des Farbstoffes zu vermeiden. Die besten Resultate erhielten wir bei Anwendung der von Thesing[1]) zur Sporenfärbung vorgeschlagenen Methode. Wir wendeten diese Methode, etwas modifiziert, wie folgt an:

Das an der Luft (event. mit leichtem Erwärmen) gut getrocknete Präparat wird in der Kälte (Zimmertemperatur) während 2—3 Minuten der Wirkung einer 1-proz. Platinchloridlösung ausgesetzt. Das Präparat wird darauf mit Wasser abgespült und, ebenfalls in der Kälte, während 3—5 Minuten mit nach Czaplewski[2]) bereitetem Karbolfuchsin gefärbt. Das Deckgläschen mit dem nicht abgespülten Farbstoffe wird dann in eine große Schale Wasser getaucht und sorgfältig gewässert. Falls sich der Farbstoff doch als kleinste Körnchen niederschlägt, wird man gut tun, das Präparat mit einer 30-proz. Alkohollösung abzuspülen. Das bei Anwendung dieser Färbungsmethode erhaltene Präparat ist rein, und die Mikroben sind intensiv und gleichförmig gefärbt.

Wir haben auch das Verhalten der beiden Nitrifikationsbakterien gegenüber der Gram-Färbung untersucht. Wir fanden, daß der Nitritbildner (der von uns aus dem Petersburger Boden gezüchtete Nitrosococcus) sich vorzüglich nach Gram färbt, während der Nitratbildner sich durch Gram entfärbt.

Nachdruck verboten.

The nodule organism of the Leguminosae — its isolation, cultivation, identification and commercial application.

By **F. C. Harrison,**

Bacteriological Laboratories, The Macdonald College, Ste. Anne de Bellevue, Q. Canada,

B. Barlow,

Bacteriological Department, Ontario Agricultural College, Guelph, Ont.

With 9 Plates.

We shall endeavour to present in as brief a form as possible, the results of some two years study on the nodule organism of the Leguminosae. This work was primarily undertaken from the economic standpoint, but a number of interesting scientific data were obtained, and are incorporated in this paper. The more practical aspects of the sub-

1) Thesing, Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. p. 254.

2) Das Karbolfuchsin nach Czaplewski wird folgendermaßen bereitet: In einer geräumigen Reibschale wird 1 g Fuchsin mit 5 ccm Acid. carbol. liquefact. innig verrieben. Nachdem die Krystalle zu einer dunkelroten Flüssigkeit gelöst sind, werden dazu allmählich unter beständiger Verreibung 50 ccm Glycerini puri gesetzt. Nach erfolgter Mischung wird die Lösung mit 100 ccm Aq. dest. verdünnt. — Dieser Farbstoff verunreinigt die Präparate weniger als der mit Alkohol bereitete.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jects have already been published as a bulletin by the Ontario Department of Agriculture, under the title of "Co-operative experiments with nodule-forming bacteria" (Toronto, March, 1906).

The various subject headings of this paper are as follows:

1) Occurrence of nodules;
2) Papilionaceae from which Ps. radicicola has been isolated;
3) Media for the culture of Ps. radicicola and for the growing of legumes;
4) Isolation of Ps. radicicola;
5) Colony formation;
6) Growth of Ps. radicicola on various media;
7) Morphology;
8) Staining reactions;
9) Viability;
10) Cultures of Leguminosae in flasks containing ash-maltose-agar;
11) Preparation and distribution of nitro-cultures;
12) Co-operative experiments.

---

1) Occurrence of nodules. We have examined upwards of thirty foreign economic species of Leguminoseae of the sub-order Papilionaceae, exclusive of some twenty four species and varieties of the genus Vicia, also a number of native species. Nodules were formed on the roots of all these with the exception of two species, Cicer arietinum and Galega officinalis. The peculiar spongy white roots of Galega were examined by crushing and staining; but no bacteria were found, and there is, of course, the probability that the appropriate variety of Ps. radicicola was not present in the soil.

No nodules were found on the roots of Gimnocladus, Gleditschia, or Cercis canadensis belonging to the sub-order Caesalpineae, but mycorhiza were present in all cases.

2) The following is a list of Papilionaceae from which Ps. radicicola has been isolated.

Trifolieae: Medicago sativa, Melilotus alba, Trifolium incarnatum, T. pratense, T. repens.

Hedysareae: Desmodium acuminatum, D. canescens, D. nudiflorum.

Vicieae: Vicia villosa, Lathyrus sativus, Pisum sativum.

Phaseoleae: Glycina hispida, Apios tuberosa, Phaseolus vulgaris.

3) Media. Media are required for the bacteria and for the leguminous plants. It is desirable that these be common media, that is serving at once for the growth of the leguminous host and the bacterial parasite. These media should be nitrogen free or nitrogen poor so as to introduce and compel the fixation of atmospheric nitrogen. In other words, they should be such as best to induce the specific functional activity. It is well also in preparing media that the materials be few and easily available and the processes be simple and rapid. The media used in these experiments meet these requirements and offer additional advantages.

Green plants and bacteria contain and require for their growth certain elements, and most of these elements are present in due pro-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

portion in the ashes of burned plants. For example, wood ashes contain phosphates, sulphides and chlorides of potash, soda, lime, magnesium and iron. Wood ashes contain no nitrogen. Water and air may be had free from combined nitrogen and they furnish the rest of the essential elements — oxygen, hydrogen and free nitrogen. Green plants get their energy for growth from the sunshine and the nitrogen fixing bacteria get their energy for growth indirectly from sunshine, when they are living within their host. When living independent of their host, a source of energy growth must be supplied the bacteria. Sugar affords such a source of energy and is free from nitrogen. Some of these relations are indicated in the table below.

Essentials for growth.

Green plant alone	Bacteria alone	In association
Wood ashes	Wood ashes	Wood ashes
Water	Water	Water
Air	Air	Air
Combined N	Sugar	Sunshine
Sunshine		

Our medium record shows (see tabulated summary of media) that during the past two years we have made up some twenty-five lots of ash-maltose-agar, varying in amount from a few hundred cubic centimetres to 8000 c. c. in a single lot. The larger lots were used for preparing nitro-cultures for distribution. We have also made seven lots of ash agar with sucrose or with sucrose or maltose and acid potassium phosphate.

Some twenty lots of liquid media have been prepared as follows: Ash maltose water, 15 lots; ash sucrose water, 2 lots; ash water with sucrose or maltose and acid potassium phosphate, $^1/_2$ to 2 parts per 100, 5 lots.

Pseudomonas radicicola from ten different species of Leguminosae have been inoculated and grown in most of these media and notes have been kept on the cultures. Most of the cultures were isolated in the spring and summer of 1904 and have kept in stock since that date.

Sugar-ash-water for Ps. radicicola. By referring to the tables of media, it will be seen that the materials and proportions have been varied. Maltose was found to be more favourable than dextrose or sucrose. Ashes from maple wood, from mixed beech and maple wood, from elm and from tamarack were found equally favourable. The ashes were obtained fresh and passed through a fine sieve — and sometimes reburned to consume remaining particles of carbon — and were then stored in glass jars until used. The distilled water was condensed on tin and stored in glass. Water from artesian wells was also used and was found equally favourable.

Methods of preparation. The bacteria were found to grow as well, or better, in a filtrate from ashes as when the whole of the insoluble residue was retained and so a filtrate was generally used. For 1000 parts of cold water take 2,5 to 25 parts by weight of wood ashes, shake together and filter at once or after half an hour, or heat together to boiling, boil a minute and filter. The filtrate should be almost colourless and more alkaline as the amount of ash and as the time before filtration is increased. To 1000 parts of the filtrate add 5 to 20 parts of maltose, sucrose or dextrose, maltose being best; heat in

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

flowing steam and boil a moment over the flame or heat in the autoclave for 20 minutes or more at 10 pounds steam pressure. The medium will vary from faintly alkaline to phenolphthalein to alkaline —6°, according to the amount of ash used. The colour will vary from a yellowish tint to a deep amber, being darker as more ash is used and as the amount of heating is increased. If desired, acid potassium phosphate, 2 to 5 parts per 1000, may be added at any stage of the preparation, but best, perhaps, after adding the sugar. The addition of this chemical makes the medium lighter in colour and strongly acid to litmus and to phenolphthalein.

A living culture of Ps. radicicola will usually grow well in one or all of the following three liquid media, the preparation of which can be varied as before indicated. Such media can be sterilized in flasks and stored indefinitely.

To 1000 c. c. of distilled water add 15 grams of wood ashes, heat in flowing steam, boil a minute and filter.

To 400 c. c. of the filtrate add 4 grams maltose.

To 200 c. c. of the filtrate add 100 c. c. distilled water and 3 grams maltose.

Heat these three solutions half an hour in flowing steam and boil a moment over the flame or else heat for 10 minutes at 10 pounds steam pressure in the autoclave. Filter clear, tube each lot separately, and sterilize in flowing steam or in autoclave at 10 pounds steam pressure for 10 to 20 minutes.

Sugar-ash-agar for Ps. radicicola. The materials and methods of preparation are, in general, the same as for the liquid media except that agar is used in addition. The sugar may vary from 4 to 20 parts per 1000, the ash from 0 to 50 parts per 1000, the agar from 7,5 to 15 parts per 1000 and the acid potassium phosphate, may be omitted or used, from 5 to 10 parts per 1000. It is best to filter the ashes from the water before adding the remaining ingredients and to dissolve the agar in the ash water before adding the maltose. If acid phosphate is added at all it should be only when 10 parts or more of ashes per 1000 are used and then after adding the maltose. In making up a series of agar media the several parts can be prepared separately in such proportions that, on mixing determined volumes and adding variable quantities of water, media will result having the desired compositions.

The three media of the following composition were found favourable: water 100 parts; maltose 1 part; agar 1 part; and the soluble portion of ashes, 1 part, 1,5 parts and 2,5 parts respectively, prepared as below.

Solution "A": Water 100 parts, maltose 2 parts, agar 2 parts, heat together until dissolved.

Solution "B": Water 100 parts, ashes 5 parts, boil and filter.

Solution "A"	Solution "B"	Water
100	40	60
100	60	40
100	100	0

Heat each lot in steam and boil over the flame or heat in the autoclave at 10 pounds steam pressure, filter, tube and sterilize in steam, or in autoclave at 10 pounds steam pressure for 20 minutes to 3 hours. The media improve with age. Agar media filter slowly through filter

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

paper, and we prefer to filter through absorbent cotton by means of a vacuum pump.

Agar media for Leguminosae. Water-culture fluids were not tried, but other workers have stated that nodules are not formed beneath the surface of liquids. Crushed quartz with water-culture fluids did not fully meet all requirements. Gelatin media were found favourable for growth, but as gelatin itself is highly nitrogenous, it was unsuitable for experiments in nitrogen fixation. We then tried agar and found it suitable in almost every respect.

Ash-maltose-agar sufficient for 12 flask cultures of Leguminosae may be conveniently prepared as follows: To 4500 c. c. of distilled or tap water add 18 grams of wood ashes, heat in steam, boil one minute and filter through absorbent cotton by means of a vacuum pump or through filter paper. To 4000 c. c. of the clear filtrate add 40 grams of agar and 16 grams of maltose, heat in steam until dissolved, boil a minute and filter as above. To each of 12 Erlenmeyer flasks of 1500 c. c. capacity add 250 grams of the filtered medium, plug with cotton and sterilize in flowing steam one half to one hour on each of three successive days, or better in the autoclave at 10 pounds pressure for one half to one hour. After sterilization, tie a piece of parchment paper, wet with mercuric chloride solution 1 : 1000, over the mouth of the flask, attach a card to receive data and weigh each flask. It will be seen that each flask contains approximately 250 grams of water, 2,5 grams of agar, I gram of maltose and the soluble part of I gram of ashes. As soon as the flasks are sterilized some sterile litmus solution may be added to some of them by means of a slender pipette thrust between the glass and the cotton. The medium remaining after preparing the 12 flasks may be tubed and used as a medium for Ps. radicicola to furnish cultures for inoculating the flasks and for isolating the cultures from the nodules which develop. Such tubes are useful also in germinating the leguminous seeds.

The ash-maltose-agar in Erlenmeyer flasks has many advantages over quartz and water-culture fluids. It is true that the quartz medium may be made nitrogen free, but the seed itself is highly nitrogenous and the ash-maltose-agar is a nitrogen-poor medium, the 1 % agar containing very little combined nitrogen. The agar medium contains only 1 % of inert material, i. e. agar; but the crushed quartz, if saturated, contains about 60 % by volume of inert material, i. e. quartz. The agar medium is transparent so that the roots are at all times visible and growth and nodule formation may be observed from the start. The quartz is opaque and the roots cannot be seen except where they press against the sides and bottom of the flask. The agar medium is a firm jelly with a glossy surface and the growth of Ps. radicicola can be measured or observed on the surface or as it accompanies the roots. Contaminations are easily detected, because of the formation of visible colonies. The quartz medium is a mixture and may be regarded as a liquid medium, yet the growth of Ps. radicicola or any possible contamination cannot be directly observed nor detected. Both afford good support for root and stem; both are favourable for the growth of Leguminosae and for the formation of nodules. In the quartz medium, root hairs form in those portions which are not saturated, and in the agar medium root hairs form on roots which creep over the surface of the agar but are but little developed on roots which penetrate the agar.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Growing the plant within a glass flask affords several advantages and offers few technical difficulties. It makes possible the most rigid pure culture methods; it requires no attention beyond the initial preparation; that is, the medium does not require to be restored nor renewed, even during a period of growth of eight months.

In these flask cultures the plant is nourished as follows: Sunshine, the energy for growth, comes through glass walls of the flask: the essential ash elements are supplied in the form of a filtrate from wood ashes the oxygen, carbon dioxide and free nitrogen pass in and out through the cotton plug in the mouth of the flask; water is abundantly supplied from the agar jelly, which consists of about 98,5 % water. The plant, being within the flask, the water of evaporation and transpiration is nearly all condensed on the glass and returned to be used over and over again. In other experiments where the stems and leaves were freely exposed to the outer air, the water of transpiration was lost and consequently the medium was soon exhausted. Before entering the host plant, the culture of Ps. radicicola is nourished in like manner, but gets is energy of growth from the oxidation of the malt sugar supplied in the medium.

Tabulated Summary of media — Stocks R 31 to R 50.

Water 100

	Agar none										Agar 1 per-cent					
Medium R	31	32	33	45	42	49	50	35	44	46	48	34	46,1	36	37	47
Ash	1	1	1	1	1,5	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	2
Maltose				2		1	1	2	2	1	2			2	0,5	1
Sucrose		2	2									2	1		2	
KH_2PO_4			0,5	0,2	0,5	2	2							0,5	0,5	1
To Litmus	—11°	—10°	+11°	+4°	alk.	+28°	+28°	—5°		neut.	neut.	—5°	—5°	+	+	+2°
To Phtalein	—8°	—6°	+31°	+19°		+93°	+63°	—2°		neut.	neut.	—2°	—5°	+	+	+18°

Tap Water 100

Medium R	74	76	77	78	80	81	82	83	51
Agar	1,5	1,2	1,5	1	2	1,5	1,2	1,2	0,75
Maltose	2	2	2	1	1	1		0,25	1
Ash	0,66	0,66	0,75	1	0,5	1	0,25	0,25	0,5
To Litmus	alk.			—10°					
To Phtalein	neut.	—2°	alk.	—2°					

Distilled water 100. — Maltose 1 per cent.

Agar none			Agar 1 per cent		
Stock R	Reaction	Ash	Ash	Reaction	Stock R
52	+1°	0	0	+3°	53
54	+1°	0,5	0,5	—2°	55
56	—2,5°	1,0	1,0	—20°	56
58	—3°	1,5	1,5	—2°	59
60	—4,5°	2,0	2,0	—2°	61
62	—6°	2,5	2,5	—2°	63
68	Faintly alk.	0,5	3	—8°	64
73		0,5	4	—13°	65
79		0,5	5	—21°	66
			Agar 1,5 per cent		
			1	—5°	69
			1,5	—7°	70
			0,5	—4°	71 tap w.
			1,0	alk.	72 tap w.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ash 1, Maltose 1, Agar 1			Ash — Maltose — Water				
Water	Reaction	Stock	Water	Ash	Maltose	Reaction	Stock
100 tap	+1°	R 87	100 dist.	0,5	0,5	—0,5°	R 90
100 dist.		R 97	100 dist.	0,5	0,5	—0,2°	R 91
100 dist.	—2°	R 98	100 tap	1	1		R 92
100 dist.		R 99	100 tap	1	1		R 93
100 dist.		R 100	100 dist.	1	1	neut.	R 95
100 tap	neut.	R 101	100 dist.	1	1		R 96
100 tap		R 102					

4) Isolation of Ps. radicicola. The plant is dug and the roots washed under the tap, a nodule is removed with forceps, washed under the tap and immersed in about 20 c. c. of the following solution:

Hydrochloric acid, C. P. sp. gr. 1,20	2,5 c. c.
Mercuric chloride crystals	1 gr.
Water, distilled or tap	500 c. c. or 1000 c. c.

The nodule sinks or floats, according to the species of plant from which it is obtained. In case it floats it must be held beneath the surface by means of a glass rod. It may remain immersed for 2 to 3 minutes, but not for more than five minutes if it is small. Large nodules like those from the Soy bean may remain in the solution for half an hour.

The nodule is then taken in flamed and cooled forceps and placed between folds of filter paper moistened with the same solution, which removes the excess of the solution. The nodule is then held with flamed and cooled forceps and a gash is cut in its side with a hot, chisel-edge, knife-needle. This needle is made by sealing a short, stiff, iridium-platinum needle in a glass rod and hammering and filing the end to a chisel edge. The needle is again flamed and when cool is thrust into the gash in the side of nodule and, by forcing it in, the nodule is broken open. The needle is flamed, cooled and thrust into the nodule in the middle of the broken surface. It is gently rotated and a sensible quantity of the crushed bacteroidal tissue adheres to its point. The needle is then touched into a drop of sterile water in a sterile Petri dish until the water is turbid. The needle is thrust again into the nodule and touched into a small drop of water on a clean cover glass. In this way three coverglasses are prepared and spread, to be stained later. Each of several sterilized Petri dishes receives first a drop of sterile water and then this drop is inoculated with a loopful, or more, of the turbid suspension from the first Petri dish. The agar media, previously melted and near the temperature of solidification, are poured into the several Petri dishes in such a manner that the suspension and the medium are mixed throughout and yet somewhat unequally. Then the colonies which develop may be crowded in parts of the plate but will be well isolated in other parts. If desired, suitable gelatin media may be poured into some of the plates, these are interesting for study, but cultures for propagation and inoculation are take from the nitrogen-poor agar plates only. When the media have solidified, the plates are marked and incubated at 20° C.

The films on the cover glasses are now fixed lightly in the flame and stained (see 8. staining reactions).

5) Colony formation. The colonies of the Ps. radicicola in ash-sugar-agar media vary with the plant from which the cultures are made and with the composition of the media, yet they are characteristic.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Colonies may appear in some plates in three or four days at 20° C, but the plates made from the same nodules, at the same time, but in different media.

The deep colonies are circular, elliptical, or triangular with rounded corners. Elliptical colonies often present with opposite lateral-rounded outgrowths. The outline is sharply defined, but deep colonies sometimes appear as irregular parches. The colonies are granular, white by reflected light, and brownish by transmitted light. Deep colonies do not grow so large as surface colonies, but deep colonies may grow 1,5 m. m. to 2 m. m. long and half as wide. Submerged colonies may rise to the surface and then they take on the form and appearance of surface colonies, except that they show at the centre the form of the colony from which they arose.

The surface colonies are raised, round, wet, entire, shining and white. They appear like drops of melted paraffin, at first gleaming and transparent, then translucent, then gradually more turbid and opaque. At first they are watery, then more mucilaginous and then may be come so highly viscid as to draw out in long threads when touched with the needle. When the surface colonies become viscid the deep colonies do also. After surface colonies appear they grow steadily for a long time, especially if well separated. Surface colonies may attain a diameter of 1 m. m. to 2 m. m. in 5 day and 3 m. m. to 4 m. m. in 15 days. After some weeks the period of active growth ceases, the colonies retain their general shape but sink and become thin and flat on account of evaporation of the water from the mucilage in which the cells lie. Under the microscope, the surface colonies appear more finely granular than the deep colonies.

We have failed to detect the presence of any organism except Ps. radicicola in leguminous nodules. Plate cultures from a nodule in special media and in ordinary gelatin and agar media of the laboratory, develop pure cultures of Ps. radicicola or else remain sterile. It is true that other colonies, mostly moulds, occasionally appear, but they are almost always surface colonies, although they are never numerous, and are not of the same kinds in plates from the same nodule. Further, we have frequently made streak cultures direct from the interior of nodules on inclined gelatin and agar media, and such cultures are negative or else develop pure cultures of Ps. radicicola, according to the medium.

Isolation of colonies. The needle is touched into a colony, then thrust into agar medium in a Freudenreich flask. Hanging drop and stain preparations are then made from the same colony.

6) Growth of Ps. radicicola on ash-maltose agar. The medium may be allowed to solidy while the tubes or Freudenreich flasks are standing upright and later are inoculated by thrusting the needle into the middle of the agar. In 2 or 3 days at 25° C, there is raised, circular, transparent, wet-shining growth spreading on the surface from the point of inoculation, and a filiform growth along the needle puncture. This filiform growth increases and many fine filaments may radiate from it horizontally in the agar. These filaments are shorter toward the bottom.

The surface growth increases but maintains its sharp circular outline, and in four to twelve days spreads over the whole surface of the agar as a white, partly transparent, thick, mucilaginous or slimy layer, with

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

a wet-shining surface. The growth usually draws out in a fine thread when touched with a needle. In favourable media the growth is copious and in seven days may increase to a depth of 6 m. m. over a surface of 10 m. m. in diameter. After some months, this layer is thinner and denser according to the evaporation from its surface, but in Freudenreich flasks or in tubes sealed with sealing wax there is little change. Cultures on ash-maltose-agar in Freudenreich flasks remain alive for more than a year at room temperature (see viability).

On streak cultures, on inclined ash-maltose-agar, in two or three days there is a moist, shining, transparent growth along the line of inoculation. As this growth increases, it is transparent at the edges, becoming gradually translucent then white and opaque towards the middle. It is at first watery, then mucilaginous and it flows down the inclined surface of the agar by its own weight and accumulates as a white slimy growth at the bottom. It spreads laterally and forms a broad band or may cover the whole surface of the agar. At room temperature growth is a little slower, but otherwise as at 25° C.

(Conclusion follows.)

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Wirkung einiger Gifte auf Aspergillus niger.

Von **W. Wächter.**

(Schluß.)

Die Abhängigkeit der Giftwirkung von der Temperatur wurde nicht näher studiert; aber aus allen Versuchen geht ohne Zweifel hervor, daß diese Abhängigkeit besteht, und zwar wirken in meinen Versuchen niedere Temperaturen in der Weise, daß die Giftwirkung gesteigert wird, wobei die Hemmung durch das zugesetzte Gift aber keineswegs proportional der Entwickelungshemmung ist, die ohnehin durch Temperaturen eintreten, welche unter dem Optimum liegen. Davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man das Wachstum auf normalen Nährlösungen zum Vergleich heranzieht. — Bei der Beurteilung der Giftwirkungen ist übrigens zu berücksichtigen, daß $CuSO_4$ und Salzsäure für sich allein schon giftiger wirken als $CuSO_4$, und andererseits ist zu bedenken, daß wir es in den — gelbgefärbten — salzsauren Lösungen nicht mehr mit einer Wirkung von $CuSO_4$ resp. mit freien Cu-Ionen zu tun haben (vgl. Tab. VI). — Auffällig ist übrigens, daß in allen Versuchen relativ größere Mengen Kupfer vertragen wurden, als nach den Angaben von Pulst (l. c.) erwartet werden durfte. Daß diese Differenzen auf Rassenunterschiede des Aspergillus allein beruhen, möchte ich nicht annehmen. Vielleicht ist das Pepton auch hier wieder die Ursache; und auch dieserhalb sollte man bei weiteren Untersuchungen möglichst von einer Verwendung des Peptons als Nährstoff absehen.

Den gleichen Schwierigkeiten begegnen wir bei gleichzeitiger Darbietung von:

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. salzsaurem Chinin und Karbolsäure.

Tabelle IX.

Temperatur 19—21½° C. Versuchsdauer 14 Tage. Je 2 Parallelversuche. Karbolsäure und HCl nach der Sterilisation, Chinin vor der Sterilisation zugesetzt.

		K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
1. Karbolsäure 0,05 Proz.	n. Tagen	3	4	5	10	7	Konidien bis zum Schluß des Versuches vereinzelt
2. „ 0,06 „	„ „	4	5	8	10	—	
3. „ 0,07 „	„ „	5	7	10	—	—	
4. „ 0,08 „	„ „	—	—	—	—	—	
5. Karbolsäure 0,05 Proz. Chinin. hydr. 1,5 Proz. HCl 0,25 Proz.	„ „	—	—	—	—	—	
6. Karbolsäure 0,05 Proz. Chinin. hydr. 0,75 Proz.	„ „	—	—	—	—	—	

Im Versuch 6 kam es also nicht einmal zur Keimung, obwohl 0,5-proz. Karbolsäure und die Chininsalzsäurelösung für sich allein ein Wachstum zulassen, und obgleich Karbolsäure + HCl weniger giftig sind als Karbolsäure allein, wenigstens in Kulturen bei optimaler Temperatur kommt dies deutlich zum Ausdruck, wie die folgende Tabelle zeigt:

Tabelle X.

Versuchsdauer 15 Tage. Je 2 Parallelversuche.

		Temperatur 19—20° C					Temperatur 32° C					
		K	I	I-D	D	C	K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
Karbolsäure 0,04 Proz.	n. Tagen	—	—	—	—	—	3	5	7	—	7	Schwarz
Karbolsäure 0,04 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	7	11	—	—	—	2	3	4	6	4	Am 6. Tage schwarz
Karbolsäure 0,05 Proz.	„ „	5	7	—	—	—	3	6	7	—	8	Am 9. Tage schwarz. In einer Flasche keine Entwickelung
Karbolsäure 0,05 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	—	—	—	—	—	2	3	4	6	4	Am 6. Tage schwarz

Bei niedriger Temperatur ist die Wirkung der Karbolsäure recht inkonstant; abgesehen von anderen unbekannten Faktoren, die eine gesteigerte Giftwirkung bei 19—20° bedingen mögen, spielen hier jedenfalls wieder chemische Veränderungen eine Rolle. Man kann nämlich stets — auch bei optimaler Temperatur — einen Farbenumschlag in der Nährlösung wahrnehmen, kurz bevor die Keimung der Sporen beginnt. Die schwachgelbe Nährlösung wird dann rötlichbraun und kann im Laufe der Entwickelung des Mycels unter Umständen schön mahagonifarben werden. In den Kulturgefäßen, in denen Keimung erfolgte, behielt die Nährlösung in fast allen Fällen ihre ursprüngliche Farbe; auch in den salzsauren Lösungen trat keine Farbenänderung ein. Durch welchen Bestandteil der Nährlösung die Umsetzung bewirkt wird, wurde nicht näher untersucht.

Beim Einträufeln der Karbolsäure in die Nährlösung entsteht immer eine weiße Trübung, die indessen beim Umschütteln wieder verschwindet. Es ist wiederum das Pepton, das den Niederschlag erzeugt, der sich übrigens leicht in Salzsäure löst. Daß Karbolsäure Eiweißlösungen koaguliert, ist bekannt, und auf Grund dieses Verhaltens hat man die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirkung des Phenols auf das Plasma zu erklären versucht, wogegen allerdings von Binz und Loew (l. c. p. 48) Widerspruch erhoben wird.

In den Kulturen, die Chinin und Karbolsäure enthalten, haben wir ferner noch die Reaktion dieser beiden Körper gegeneinander zu berücksichtigen; Verbindungen von Chinin und Phenol (Phenolchinin) sind mehrere bekannt, die bezüglich ihrer Löslichkeit in Wasser stark differieren. Sie werden durch Säuren und Alkalien leicht zersetzt, unter Abscheidung von Phenol, geben aber mit Eisenchlorid keine Phenolreaktion [1]). — Ob wir es hier mit derartigen Verbindungen zu tun haben, entzieht sich allerdings meiner Kenntnis; jedenfalls schien eine Variierung der Versuche unter den gegebenen Bedingungen aussichtslos.

Im Anschluß hieran mögen noch ein paar Kulturversuche erwähnt werden, die mit einer Nährlösung angestellt wurden, welcher gleichzeitig

4. Kupfersulfat und Karbolsäure

zugesetzt wurden:

Tabelle XI.

Temperatur 32° C (dunkel). Versuchsdauer 14 resp. 8 Tage. Je 2 Parallelversuche. Karbolsäure, $CuSO_4$ und HCl nach der Sterilisation der erkalteten Nährlösung zugesetzt.

		K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
Karbolsäure 0,04 Proz. + $CuSO_4$ 0,03 Proz.	n. Tagen	5	—	—	10*	10	* Am 14. Tage schwarz
Karbolsäure 0,04 Proz. + $CuSO_4$ 0,03 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	3	14*	—	—	—	* Ganz spärliche Entwickelung
Karbolsäure 0,04 Proz.	„ „	1	—	2	3*	3	* Am 4. Tage schwarz
$CuSO_4$ 0,03 Proz.	„ „	1	2	5	6*	5	* Schwarz } bereits in Tabelle VI mitgeteilt
$CuSO_4$ 0,03 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	1	3	5	8	8*	* Weniger Konidien als vorher } bereits in Tabelle VI mitgeteilt

Die Lösungen ohne HCl sind etwas trübe und blau, die salzsauren Lösungen klar und farblos.

Es addieren sich also, wie aus der Tabelle deutlich hervorgeht, die Wirkung des $CuSO_4$ und der Karbolsäure, mit oder ohne HCl. Im übrigen gilt in Hinsicht auf die Veränderung der Gifte durch die Nährlösung u. s. w. das oben Gesagte.

5. Die Wirkung der Karbolsäure und Salicylsäure.

Tabelle XII.

Temperatur 32° C (dunkel). Versuchsdauer 14 Tage. Karbolsäure und Salicylsäure den sterilisierten Lösungen zugesetzt.

		K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
Karbolsäure 0,04 Proz. + Salicylsäure 0,05 Proz.	n. Tagen	1	2	5	6*	2	* Schwarz
Karbolsäure 0,04 Proz. + Salicylsäure 0,05 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	—	—	—	—	—	
Karbolsäure 0,04 Proz.	„ „	1		2	3*	3	Am 5. Tage schwarz
Salicylsäure 0,05 Proz.	„ „		1	2	3*	2	* Schwarz

1) Vergl. Beilstein, Handbuch der organischen Chemie. Bd. III. p. 812.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Während die Wirkung des Phenols, wie wir sahen, in meinen Versuchen keineswegs konstant ist, wirkte die Salicylsäure recht gleichmäßig; es kommt sehr selten vor, daß einmal die Parallelversuche nicht übereinstimmen. Mischungen von Karboläure und Salicylsäure wirken wohl infolge der ungleichen Reaktion des Phenols auch nicht immer übereinstimmend; so fand ich einmal — um hier das krasseste Beispiel zu wählen — daß in einer Nährlösung mit 0,05 Proz. Phenol und 0,04 Proz. Salicylsäure in der einen Kultur erst am 7. Tage kleine Inseln auftraten, die sich gar nicht weiter entwickelten, während in der anderen Flasche bereits am 2. Tage eine geschlossene Decke und am 3. Tage Konidien vorhanden waren. Ich erwähne diesen Fall besonders deswegen, weil Meissner (l. c. p. 42) Akkommodationsversuche mit Schimmelpilzen auf Phenol und Salicylsäure angestellt und gefunden hat, daß Kulturen, die längere Zeit auf Salicylsäure gewachsen waren, ein schlechteres Wachstum auf Phenollösung zeigten als die an Phenol gewöhnten. Umgekehrt fand Meissner, daß an Phenol gewöhnte Pilze unempfindlicher gegen Salicylsäure waren als solche, die bisher nur auf Salicylsäure gewachsen waren; er folgert aus seinen Versuchen bis zu einem gewissen Grade eine antagonistische Wirkung beider Gifte, wenigstens für Penicillium. Generalisieren darf man die Folgerungen, die Meissner aus seinen Versuchen zieht, jedenfalls nicht, und aus meinen Untersuchungen geht sicher so viel hervor, daß die Frage, ob sich gegen Phenol widerstandsfähigere Rassen züchten lassen, durch Meissners Beobachtungen noch nicht als gelöst betrachtet werden darf.

Was nun die in der Tabelle XII mitgeteilten Versuche anbetrifft, so ist zunächst auffällig, wie verschieden sich die Lösungen mit und ohne Salzsäure verhalten. Ohne HCl-Zusatz bemerkt man kaum eine stärkere Wirkung der beiden Gifte, als wenn Phenol und Salicylsäure einzeln zugesetzt wurden; aber in den salzsauren Nährlösnngen kommt es bei gleicher Konzentration der Gifte nicht einmal zur Keimung der Konidien, obwohl wir fanden, daß ein Zusatz von Salzsäure zur Karbolsäure die Giftwirkung der letzteren herabminderte (vgl. Tab. X). — Man könnte nun zunächst daran denken, daß sich unter dem Einfluß der Salzsäure Salicylsäurephenylester (Salol) bildete, bekanntlich ein vielverwendetes Desinfektionsmittel, und daß dieses auf das Wachstum des Aspergillus nachteiliger einwirkt als Phenol und Salicylsäure. In der Nährlösung kann sich der Ester allerdings nicht bilden; man müßte schon annehmen, daß die Umsetzung innerhalb der Zellen vor sich ginge. Vergleichende Versuche mit Salol lassen sich wegen der schweren Löslichkeit dieser Verbindung nicht anstellen. — Wahrscheinlich tritt aber eine derartige Umsetzung nicht ein; wenigstens liegt kein Grund mehr zu dieser Annahme vor, nachdem sich herausgestellt hatte, daß die Wirkung der Salicylsäure durch einen Salzsäurezusatz bedeutend gesteigert werden kann; und auf dieser Eigentümlichkeit beruht wohl allein die starke Giftigkeit des Phenol-Salicylsäure-Salzsäuregemisches.

Man ist also in der Lage, durch den Zusatz von einer Menge Salzsäure, die für sich absolut ungiftig ist, viel weniger — etwa die Hälfte — Salicylsäure verwenden zu können, um das Wachstum des Aspergillus zu verhindern. Bei der großen Bedeutung, welche die Salicylsäure — trotz des Widerstandes mancher Hygieniker und fast aller Nahrungsmittelchemiker — immer noch als Konservierungsmittel hat, besonders in der Obstkonservenindustrie, verdient diese Tatsache vielleicht einige Beachtung. Eine nähere Untersuchung unter Berücksichtigung der

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

praktischen Seite der Frage wird darüber Aufschluß geben müssen, inwieweit diese Verstärkung der Giftwirkung für andere Schimmelpilze Giltigkeit hat und ob auch andere Säuren, besonders organische, die gleichen Eigenschaften wie die Salzsäure haben.

In der folgenden Tabelle sind einige Daten zur Illustration des Gesagten zusammengestellt.

Tabelle XIII.

Je zwei Parallelversuche. Temperatur 32° C im Dunkelthermostaten.

		K	I	D	C	Bemerkungen	
Salicylsäure 0,05 Proz.	n. Tagen	1	—	2*	2	* Am 4. Tage schwarz	Versuchsdauer 25 Tage
Salicylsäure 0,05 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	—	—	—	—		
Normale Nährlösung	„ „	—	1	2*	2	* Schwarz	
Salicylsäure 0,05 Proz.	„ „	—	1	2*	2	* Schwarz	Versuchsdauer 18 Tage
Salicylsäure 0,05 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	—	—	—	—		
Salicylsäure 0,04 Proz.	„ „	—	1	2*	2	* Schwarz	
Salicylsäure 0,04 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	—	—	—	—		
Salicylsäure 0,02 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	3	4*	—	6	* Am 11. Tage schwarz	
Salicylsäure 0,01 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	—	2	5*	2	* Halbe Decke	
Salicylsäure 0,1 Proz.	„ „	—	1	2*	2	* Am 4. Tage schwarz	
Salicylsäure 0,1 Proz.	„ „	—	—	—	—	Lösung war nach dem ersten Tage rötlich gefärbt	Versuchsdauer 5 Tage
„ 0,09 Proz.	„ „	2	3*	—	3	* Am 4. Tage schwarz	
„ 0,07 Proz.	„ „	1	—	2*	2	* Am 3. Tage schwarz	
		—	2	4*	3	* Schwarz	
„ 0,05 Proz.	„ „	1	—	2*	2	* Am 3. Tage schwarz	

Wir sehen also, daß Salicylsäure in einer Konzentration von 0,05 Proz. für Aspergillus fast gar nicht giftig wirkt, während ein Tropfen Salzsäure auf 20 ccm Nährlösung gar kein Wachstum mehr zuläßt.

Daß einmal bei einer Konzentration von 0,1 Proz. sehr gutes Wachstum eintrat, und bei einem zweiten Versuch keine Entwickelung stattfand, zeigt, daß unter Umständen auch die Salicylsäure nicht gleichmäßig reagiert. Die Rotfärbung der Nährlösung deutet auf Veränderungen hin, deren Ursachen nicht eruiert werden konnten. — Daß aber überhaupt noch auf einer 0,1-proz. Salicylsäurelösung Wachstum möglich ist, legt die Vermutung nahe, daß die Angaben der Industriellen[1]), zur Konservierung würden höchstens 0,05 Proz. gebraucht, nicht für alle Fälle richtig sein können, es müßte denn sein, daß die Zusammensetzung des Obstes derart ist, daß in der Tat eine geringere Menge Salicylsäure zur Verhinderung der Schimmelbildung ausreichte. Nach den Erfahrungen mit der Salzsäure ist diese Annahme nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen, doch bedarf es zur Klarstellung solcher Fragen natürlich weiterer Untersuchungen.

Die Ursache der Salzsäurewirkung auf die Salicylsäure ist wahrscheinlich nicht in einer chemischen Veränderung zu suchen; wenigstens habe ich mich vergeblich bemüht, in der chemischen Literatur irgend-

1) Vgl. z. B. Deutsches Nahrungsmittelbuch p. 141. Heidelberg 1905. Herausgegeben v. Bunde deutscher Nahrungsmittelfabrikanten u. Händler e. V.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welche Angaben darüber zu finden. Offenbar beruht die Steigerung der Giftwirkung auf einer Zurückdrängung der Dissoziation der Salicylsäure durch die Salzsäure. Während nämlich im allgemeinen die Giftigkeit der Säure mit ihrer Stärke zunimmt, so wissen wir andererseits, daß eine Reihe organischer Säuren viel giftiger wirken, als es ihrer Stärke nach der Fall sein sollte[1]). Nach Overton[2]) kann man sich dieses Verhalten dadurch erklären, daß für die undissoziierten Moleküle der meistens leicht in Aether löslichen organischen Säuren die Plasmahaut besser durchlässig ist.

6. Die Giftwirkung des Quecksilberchlorids.

In ihrer bekannten Arbeit: „Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion“[3]) haben Krönig und Paul festgestellt, daß die Desinfektionskraft des Sublimats durch steigende Mengen NaCl herabgesetzt werden kann; ähnlich wirkt ein Zusatz von KCl und HCl. — A. Fischer[4]) konnte diese Eigenschaft für höhere Pflanzen (Epidermiszellen von Tradescantia) bestätigen, indem er wie Krönig und Paul wässerige Lösungen auf die Objekte einwirken ließ.

Für mich war es von Interesse zu sehen, ob auch in Nährlösungen die Giftigkeit des Sublimats durch NaCl und HCl herabgesetzt werden könnte, nachdem Pulst (l. c.) für Penicillium über Hemmung des Wachstums und der Sporenbildung durch Sublimat einige Angaben gemacht hatte. — Wie aus den in folgenden Tabellen zusammengestellten Versuchsergebnissen hervorgeht, ist das nun keineswegs der Fall; im Gegenteil: die Giftigkeit des Quecksilberchlorids wird durch einen Zusatz von Chlornatrium, noch mehr durch Zusatz von Salzsäure, zum Teil ziemlich erheblich gesteigert.

Tabelle XIV.

Temperatur 30° C. Schwaches diffuses Licht. Sublimat und NaCl nach der Sterilisation der Nährlösung zugesetzt.

		K	I	D	C	Anzahl der Versuche	Bemerkungen
$HgCl_2$ 0,001 Proz.	n. Tagen	1	—	2	3*	3	* Schwarz
NaCl 2 Proz.	„ „	1	—	2	3*	3	* Schwarz
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + NaCl 0,1 Proz.	„ „	3	4*	—	4	2	Am 5. Tage schwarz
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + NaCl 0,2 Proz.	„ „	7	8	—	8*	2	* Schwarz
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + NaCl 0,5 Proz.	„ „	8	10	—	10*	2	* An den trockenen Rändern wenig Konidien
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + NaCl 1,0 Proz.	„ „	6	10	—	9 11 15	3	
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + NaCl 2.0 Proz.	„ „	5	6	—	7*	3	* An den trockenen Rändern
Normale Nährlösung	„ „	1	—	2	3	3	

1) Vgl. z. B. Kahlenberg und True, Botanical Gazette. Vol. XXII. 1896, Höber l. c. p. 266 und die dort zitierte Literatur.
2) Pflügers Archiv. Bd. XCII. 1902. p. 115, zitiert nach Höber l. c. p. 266.
3) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXV. 1897.
4) Ib. p. 104.

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle XV.

Temperatur 32° C. Dunkel, je 2 Parallelversuche.
Salze vor der Sterilisation nach der Sterilisation zugesetzt.

		K	I	D	C	K	I	D	C
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + NaCl 0,5 Proz.	n. Tagen	1	2	3	3	1	2	7	5
$HgCl_2$ 0,002 Proz. + NaCl 0,5 Proz.	„ „	1	2	3	3	2	3	7	5
$HgCl_2$ 0,003 Proz. + NaCl 0,5 Proz.	„ „	1	2	3	3	2	5	—	5
$HgCl_2$ 0,001 Proz.	„ „	1	2	3	3	1	2	3	3
$HgCl_2$ 0,002 Proz.	„ „	1	2	3	3	1	2	3	4
$HgCl_2$ 0,003 Proz.	„ „	1	2	3	3	1	2	7	5
Normale Nährlösung	„ „	1	2	3	3				

Die in diesen beiden Tabellen verzeichneten Versuchsergebnisse stimmen insofern nicht miteinander überein, als in den Versuchen der Tabelle XV der Unterschied in der Wirkung des Sublimats und des Sublimats + HCl viel geringer ist als in den Versuchen Tabelle XIV; in denjenigen Fällen, in welchen das Sublimat vor der Sterilisation zugesetzt wurde, zeigte sich überhaupt kein Unterschied. Da in den Kulturen der Tabelle XV die Konzentration des $HgCl_2$ eine stärkere war, so konnte man annehmen, daß 0,5 Proz. NaCl Zusatz zu wenig sei, wenn nicht auch in der 0,001-proz. Sublimatlösung die Differenz zwischen beiden Versuchsreihen die gleiche wäre. — Da im übrigen die Kulturbedingungen in beiden Versuchsreihen die gleichen waren und der Aspergillus ebenfalls gleicher Herkunft war, so vermute ich, daß der Unterschied möglicherweise dem Pepton zugeschrieben werden muß; denn dieses stammte von verschiedenen Firmen. Wie $CuSO_4$, gibt nämlich auch $HgCl_2$ mit Pepton einen Niederschlag von einem Hg-Albuminat, dessen Zusammensetzung mit der des Peptons wechselt. Dieser Niederschlag löst sich bei geringer Konzentration des $HgCl_2$ schon beim Umschütteln in der Kälte, bei etwas stärkerer Konzentration in der Wärme und dann in Salzsäure und Chloriden. — Alle Lösungen der Tabellen XIV und XV waren klar, aber trotzdem war es nicht gleichgültig, ob die Salze vor oder nach der Sterilisation der Nährlösung zugesetzt wurden, wie aus Tabelle XV hervorgeht. Das wird noch deutlicher, wenn an Stelle des NaCl Salzsäure verwendet wird.

Tabelle XVI.

Temperatur 32° C, dunkel. Je 2 Parallelversuche.
$HgCl_2$ vor der Sterilisation $HgCl_2$ u. HCl nach der Sterilisation zugesetzt.

		K	I	D	C	K	I	D	C	
$HgCl_2$ 0,005 Proz.	n. Tagen	—	1	2	2					Wurde nicht geimpft, da der Niederschlag sich nicht wieder löste
$HgCl_2$ 0,01 Proz.	„ „	—	1	2	4					
$HgCl_2$ 0,02 Proz.	„ „	—	—	—	—					
$HgCl_2$ 0,005 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „					—	—	—	—	
$HgCl_2$ 0,01 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „					—	—	—	—	
$HgCl_2$ 0,02 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „					—	—	—	—	

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Alle Lösungen geben auf Zusatz von $HgCl_2$ einen Niederschlag; in den 0,005-proz. und 0,01-proz. Lösungen verschwand er wieder durch die Sterilisation. In der 0,02-proz. Lösung entstand nach der Sterilisation ein gelber Bodensatz, der sich auf Zusatz eines Tropfens (0,25 Proz.) Salzsäure auflöste.

In dieser Versuchsreihe wurden 5—10mal stärkere Sublimatlösungen angewandt, was nur dadurch möglich wurde, daß durch die Erhitzung die 0,005-proz. und 0,01-proz. Lösung klar blieb. Da die nicht erhitzten Lösungen einen Niederschlag gaben, wurden diese nicht geimpft; es sind daher, streng genommen, die beiden Versuchsreihen nicht ohne weiteres vergleichbar, da wir in den sterilisierten Lösungen ohne Frage eine andere Hg-Verbindung vor uns haben als in den Lösungen, denen das $HgCl_2$ nach der Sterilisation zugesetzt wurde.

Auffällig an diesen Versuchen ist, daß wir hier gerade das Gegenteil wie in den $CuSO_4$-Lösungen (s. Tabelle VII) beobachten; dort wurde gerade durch die Erhitzung eine stärkere Giftwirkung erzielt. Es scheinen sich demnach die Schwermetallsalze nicht gleich gegenüber dem Pepton zu verhalten.

Um zu zeigen, daß auch in schwächeren Sublimatlösungen, in denen sich der Niederschlag wieder löste, durch Salzsäure die Giftwirkung gesteigert wird, wurden noch einige weitere Versuche angestellt:

Tabelle XVII.

Temperatur 32° C. Dunkelthermostat. Je 2 Parallelversuche. Versuchsdauer 8 Tage. $HgCl_2$ und HCl den sterilisierten Lösungen zugesetzt.

		K	I	D	C	Bemerkungen
$HgCl_2$ 0,001 Proz.	n. Tagen	—	1	2	2	Fast schwarze Decke
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + HCl 0,025 Proz.	„ „	1	2	4	2	Am 5. Tage Decke schwarz
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + HCl 0,05 Proz.	„ „	2	3	8	3	Am 8. Tage Decke schwarz
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + HCl 0,125 Proz.	„ „	4	7	—	7	Am 8. Tage ziemlich viele Inseln und schwarz
$HgCl_2$ 0,001 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	5	8	—	—	In einer Flasche keine Entwickelung
$HgCl_2$ 0,005 Proz. + HCl 0,025 Proz.	„ „	1	5	—	5	
$HgCl_2$ 0,005 Proz. + HCl 0,05 Proz.	„ „	—	—	—	—	
$HgCl_2$ 0,005 Proz. + HCl 0,125 Proz.	„ „	—	—	—	—	
$HgCl_2$ 0,005 Proz. + HCl 0,25 Proz.	„ „	—	—	—	—	
Normale Nährlösung	„ „	—	1	2	3	Am 3. Tage schwarz

Da, wie erwähnt, in den 0,001-proz. Sublimatlösungen der Niederschlag schon in der Kälte wieder verschwindet, so konnte hier ein Kontrollversuch angesetzt werden, was bei einer 0,005-proz. Lösung nicht möglich war. Abgesehen von der Tatsache, daß aus allen Versuchen hervorgeht, daß ein Salzsäurezusatz zur Sublimatnährlösung die Giftigkeit der letzteren steigert, können wir beobachten, daß die Giftigkeit schon

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei sehr geringen Mengen HCl wächst und sich mit zunehmenden Mengen HCl deutlich steigert.

Eine Erklärung für die hier besprochenen Vorgänge zu geben, ist nicht ganz leicht; die Verhältnisse sind offenbar sehr kompliziert und wenn Vermutungen zur Gewißheit werden sollen, müßte man auch hier wieder versuchen, als Stickstoffquelle das Pepton durch einen anderen besser definierten Körper zu ersetzen.

Die Untersuchungen Krönigs und Pauls (l. c.) sind unbedingt richtig; es steht also fest, daß die Giftwirkung einer wässerigen Sublimatlösung durch NaCl und HCl herabgesetzt wird und zwar dadurch, daß die Hg-Ionen, die das sich bildende Doppelsalz Na_2HgCl_4 abdissoziiert, durch NaCl-Zusatz schließlich zum Verschwinden gebracht werden, woraus folgt, daß die toxische Wirkung des Quecksibersalzes nicht vom Gesamtquecksilbergehalt, sondern nur von den freien Hg-Ionen abhängig ist. — Im Widerspruch zu dieser Annahme steht die gleichfalls von Krönig und Paul konstatierte Tatsache, daß das stärker dissoziierte Nitrat, Sulfat und Acetat des Hg weniger gut desinfiziert als das Chlorid. Nach Höber (l. c. p. 264) liegt das daran, daß nur das Chlorid lipoidlöslich ist; „es braucht also nicht, wie die anderen (Salze) zunächst an der Sporenoberfläche Halt zu machen, sondern dringt sofort ins Protoplasmainnere vor, während die stark dissoziierten Salze, deren Ionen in den Lipoiden unlöslich sind, das Protoplasma erst töten können, nachdem die Oberfläche destruiert ist“. — Einen weiteren Widerspruch kann man in den Angaben Stevens[1]) und Clarks[2]) finden, daß es bei der Entwickelungshemmung von Schimmelpilzen weniger auf den Dissoziationsgrad, als auf den Gesamtgehalt des Giftes ankommt. Auch das ist nach Höber nur ein scheinbarer Widerspruch, denn er meint, daß der ganze Unterschied nur in der Zeit liegt: wenige giftige Ionen können in langer Zeit denselben Schaden anrichten, wie viele Ionen in kurzer Zeit. — In den Quecksilberalbuminaten, also auch in den Verbindungen, die das $HgCl_2$ mit dem Pepton eingeht, haben wir wenig dissoziierte und daher weniger giftige resp. langsamer wirkende Gifte vor uns. Das Wachstum der Pilze wird darum weniger gehemmt, als durch freie Hg-Ionen. Diese Tatsache ist lange bekannt und wird auch von Krönig und Paul hervorgehoben. Wenn aber diese Autoren dann weiter sagen (l. c. p. 89): „Diese Verminderung der Desinfektionskraft muß auch dann eintreten, wenn durch Zusatz von Jodkalium, Chlornatrium, HCl u. s. w., welche die Bildung komplexer quecksilberhaltiger Ionen veranlassen, das Löslichkeitsprodukt der Quecksilbereiweißverbindung in der Lösung nicht erreicht und die Entstehung eines Niederschlages verhindert wird“, so gilt das offenbar nur im Vergleich zu einer Salzlösung. Denn wie aus unsern Versuchen hervorgeht, wird die Giftwirkung der Hg-Albuminat enthaltenden Nährlösungen gesteigert durch NaCl und HCl. Wir müssen also doch wohl annehmen, daß durch sekundäre Dissoziation von den komplexen Ionen $HgCl_4$ mehr Hg-Ionen abgespalten werden, als von denen des Quecksilberalbuminats[3]).

---

1) Botan. Gazette. Vol. XXVI. 1898. p. 377.
2) Ib. Vol. XXVIII. 1899. p. 288.
3) Während der Drucklegung kommt mir ein Autoreferat im Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 1907. p. 173 von Th. Bokorny zu Gesicht „Ueber Einwirkung sehr verdünnter Lösungen u. s. w.“ (Allgem. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 18. Aug. 1906.) In dieser Arbeit teilt der Verf. mit, daß Sublimat bei Gegenwart von Pepton in der Nährlösung schädlicher wirkt als ohne dieses.

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

7. Die Wirkung des Jodkaliums und des Kaliumchlorates.

Die Jodide wirken nach Loew (l. c. p. 107) auf höhere Pflanzen besonders deswegen giftig, weil sie sauren Zellsaft besitzen und sauer reagierende Stoffe aus ihren Wurzeln abscheiden, die das Jodkalium oder Jodnatrium zersetzen. Algen und Infusorien halten sich in einer 0,5-proz. Jodkaliumlösung 5 Wochen lang lebendig, Schimmel-, Sproß- und Spaltpilze gediehen, ohne Schaden zu leiden, in einer neutralen 1-proz. KJ-Lösung. Für höhere Tiere und Menschen ist das KJ im allgemeinen wenig giftig. Nach Untersuchungen Binz'[1]) wirkt es dadurch, daß freies Jod im Organismus abgeschieden wird, eine Anschauung, der man sich allgemein angeschlossen zu haben scheint. Kunkel (l. c.) sagt: „Wo allerdings neutrale oder schon saure Reaktion besteht und wo Sauerstoff gerade zur Oxydation verwendet wird (und das ist in den Geweben), da kann wohl vorübergehend auch freies Jod entstehen.“

Bei der geringen Giftigkeit des Jodkaliums für Schimmelpilze — in meinen Kulturen wuchs Aspergillus noch auf 4 Proz. — muß allerdings, wenn überhaupt, eine ganz minimale Menge Jod ausgeschieden werden, denn das freie Jod ist ein sehr starkes Gift auch für Aspergillus. Nach Raciborski[2]) keimen nur wenige Sporen in einer $^1/_{1000}$ Normaljodlösung und in einer $^1/_{500}$ Normallösung überhaupt nicht mehr. — Um so interessanter ist, daß in der Nährlösung durch Aspergillus aus KJ Jod frei gemacht werden kann[3]), und zwar, wie Raciborski (l. c.) nachweist, durch Ausscheidung einer Oxydase in neutraler oder schwach alkalischer Lösung. Wie Raciborski ferner gezeigt hat, ist diese Oxydasebildung abhängig von der Kohlenstoffquelle und von dem Entwickelungsstadium des Pilzes: nur jungen Mycelien kommt diese Eigenschaft zu, und die vom Pilz ausgeschiedene Säure genügt, die Oxydasebildung zu sistieren. — In meinen Kulturen habe ich niemals Jod nachweisen können, und das liegt wohl an der Pepton enthaltenden Nährlösung. Raciborski (l. c. p. 697) gibt an, daß in Nährlösungen mit Pepton das Jod sehr bald verschwindet, indem es sich wahrscheinlich an Pepton addiert.

Wie das Jodkalium, ist auch das Kaliumchlorat im allgemeinen nicht sehr giftig; doch verhalten sich die Organismen und vielfach auch die Individuen recht verschieden. Früher gaben die Aerzte — besonders in Frankreich — bis zu 30 g und mehr am Tage innerlich[4]); heute ist man vorsichtiger, nachdem Fälle bekannt geworden sind, daß schon sehr kleine Mengen tödliche Vergiftungen hervorgerufen haben; besonders schnell wird das $KClO_3$ vom nüchternen Magen resorbiert (Kunkel, l. c. p. 296). — Pflanzenfresser sind vom Magen aus nur schwer zu vergiften (10 g pro Kilogewicht; Kunkel, l. c. p. 300).

Ueber die Einwirkung auf grüne Pflanzen findet man bei Loew (l. c.) einige Angaben: Er beobachtete, daß Buchweizenkeimlinge in Nährlösungen mit 0,1-prom. $KClO_3$-Zusatz nach 3 Wochen unter Erbleichen der Blätter abstarben. Spirogyren starben erst nach einer Reihe von Tagen in 0,1-prom. Lösungen des Salzes (l. c. p. 17); nach Bokorny (l. c. p. 275) wurden noch nach 24 Stunden in einer 0,1-proz.

---

1) Virchows Archiv. Bd. LXII. 1875. p. 124.

2) Ueber die Jodidreaktion des Aspergillus niger. (Bull. d. l'acad. des sc. d. Cracovie. Classe des sc. math. et natur. Octob. 1905. p. 696.)

3) Altenburg, zit. b. Kobert, Lehrb. d. Intoxikationen. 1904. Bd. II. p. 186.

4) v. Mering, Das chlorsaure Kali. Berlin 1885. p. 12 ff.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lösung Cladophora, Beggiatoa und Infusorien lebend gefunden. Schimmelpilze vertragen nach Manassein[1]) hingegen noch 7 Proz. $KClO_3$. — Aspergillus niger wuchs in meinen Kulturen noch bei 5 Proz. $KClO_3$ und bildet Konidien; allerdings ist die Mycelentwickelung schon von 1 Proz. an weniger kräftig als bei Jodkalium.

Die Wirkung des $KClO_3$ beruht wahrscheinlich auf seiner oxydierenden Eigenschaft, und im Tierkörper wird ferner das Oxyhämoglobin in Methämoglobin umgewandelt. (Oxyhämoglobin unterscheidet sich vom MetHb dadurch, daß im ersteren die Bindung von O_2 und Hb sehr locker ist, während im MetHb die Bindung so fest ist, daß der Organismus sie nicht mehr zerlegen kann [Kobert, l. c. p. 97].) Loew (l. c. p. 17) weist darauf hin, daß im Gegensatz zum übermangansaurem Kali, das organische Substanzen leicht oxydiert, $KClO_3$ beim Kochen, selbst nach Ansäuern mit Essigsäure Glykose nicht verändert, daß hingegen bei Zusatz von etwas Platinmohr sofort „eine Uebertragung von Sauerstoff aus dem Salze auf den Zucker“ beginnt; dabei wird KCl gebildet, und die Lösung zeigt saure Reaktion. „Es gehört also noch ein Anstoß dazu, um die Oxydation zu bewirken, ein Anstoß, welcher durch die energischen Schwingungen im lebenden Plasma gegeben wird.“ Wie man sieht, befinden wir uns über die Wirkungsweise des Kaliumchlorats noch recht im unklaren.

Ueber die Wirkung beider Salze zusammen, des KJ und des $KClO_3$, habe ich in der toxikologischen Literatur keine Angaben gefunden, was um so merkwürdiger ist, als die Möglichkeit, um nicht zu sagen die Wahrscheinlichkeit, vorhanden ist, daß ein Patient, der längere Zeit Jodkali nehmen muß, gelegentlich auch $KClO_3$ gebraucht, zumal dieses eines der gebräuchlichsten Hausmittel ist. Nur eine beiläufige Mitteilung: In der Pharmaz. Zeitung von 1867, No. 48 ist mir bekannt geworden, in der ein englischer Apotheker M. Daniel Hamburg kurz berichtet, daß ein Gemisch von KJ und $KClO_3$ einen Hund töten kann, trotzdem sich diese Salze unter gewöhnlichen Umständen nicht zersetzen. — Diese Giftigkeit beider Salze zusammen konnte ich am Aspergillus niger beobachten, wie aus nachstehender Tabelle hervorgeht.

(Siehe Tabelle XVIII. p. 283.)

Zunächst sehen wir, daß das Jodkalium bis zu der angewandten Konzentration von 4 Proz. absolut ungiftig ist, während in den $KClO_3$-Lösungen die Mycelentwickelung etwas gehemmt wird. Dann kommt bei 2 Proz. und 3 Proz. gleicher Teile KJ und $KClO_3$ die starke Giftwirkung deutlich zum Ausdruck, während diejenigen Kulturen, die 4 bis 6 Proz. $KClO_3$ enthalten, zum Teil noch einiges Wachstum zeigen, wenn auch erst nach vielen Tagen. Die Giftigkeit steigt wieder mit abnehmendem $KClO_3$-Gehalt der Nährlösung.

Die Wirkung des Salzgemisches beruht auf der Ausscheidung von freiem Jod, das dann entsteht, wenn die gelösten Salze mit einer Säure in Berührung kommen; und diese Bedingung ist durch die Oxalsäureausscheidung des Aspergillus gegeben[2]). — Lösungen von KJ + $KClO_3$, mit ein wenig Stärkelösung versetzt, geben mit der Kulturflüssigkeit normaler Aspergillus-Kulturen fast sofort eine intensiv blaue Färbung, ebenso wie mit Oxalsäure und Weinsäure. Jodkali allein zeigt

1) Zitiert bei Loew, l. c. p. 17.

2) Ob die ausgeschiedene Säure in der Tat Oxalsäure war, habe ich nicht nachgeprüft; für den vorliegenden Fall ist das ja auch unwesentlich.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XVIII.
Temperatur 30° C. Schwaches diffuses Tageslicht, je 2 oder 3 Parallelversuche.

		K	I	D	C	Versuchsdauer	Bemerkungen
1. KJ 2 Proz.	n. Tagen	1	—	2	4	24 Tage	Alle Lösungen verfärbten sich; anfänglich wurden sie gelblich-grün, später allmählich braun von der Farbe der Jodlösung. Das Mycel färbt sich kanariengelb bis braun.
2. „ 3 „	„ „	1	—	2	3	24 „	
3. „ 4 „	„ „	1	—	2	3	24 „	
4. $KClO_3$ 2 Proz.	„ „	1	3	—	3	24 „	
5. „ 3 „	„ „	1	3	—	4	24 „	
6. „ 4 „	„ „	1	3	—	4	24 „	
7. „ 5 „	„ „	1	3	—	4	24 „	
8. KJ, $KClO_3$ } 0,5 Proz.	„ „	1	—	—	—	24 „	
9. KJ, $KClO_3$ } 1,0 „	„ „	1	—	—	—	24 „	
10. KJ, $KClO_3$ } 2,0 „	„ „	1	—	—	—	24 „	
11. KJ, $KClO_3$ } 3,0 „	„ „	—	—	—	—	24 „	
12. KJ, $KClO_3$ } 4,0 „	„ „	5 5 10	10 26 —	— — —	13 — —	30 „	
13. KJ 3,0 Proz. $KClO_3$ 5,0 Proz.	„ „	5 14 14	19 19 —	— — —	19 19 —	30 „	Nach 30 Tagen neue submerse Inseln
14. KJ 2,0 Proz. $KClO_3$ 6,0 Proz.	„ „	6 7 7	24 — —	— — —	— — —	30 „	
15. KJ 4,0 Proz. $KClO_3$ 0,5 Proz.	„ „	1	—	—	—	24 „	
16. KJ 4,0 Proz. $KClO_3$ 1,0 Proz.	„ „	2	—	—	—	24 „	
17. KJ 4,0 Proz. $KClO_3$ 2,0 Proz.	„ „	—	—	—	—	24 „	
18. KJ 4,0 Proz. $KClO_3$ 3,0 Proz.	„ „	—	—	—	—	24 „	

diese Reaktion nicht. — Hingegen erleidet $KClO_3$ durch Oxalsäure eine Veränderung. Silbernitrat gibt einen Niederschlag, der sich im Gegensatz zu dem durch Oxalsäure allein hervorgerufenen in Salpetersäure nicht löst; das deutet auf freie Cl-Ionen. — Organische Säuren machen schon in der Kälte aus $KClO_3$ Chlor frei[1]); dieses kann natürlich das Jodkalium zersetzen, wodurch sich dann die Ausscheidung von Jod in der Nährlösung aufs einfachste erklärt; eine makroskopisch sichtbare Keimung war, wie die Tabelle zeigt, in einigen Fällen nicht zu beobachten. Leider wurde versäumt, mikroskopisch zu untersuchen, ob die Konidien ausgekeimt waren. Wenn in der Tat keine Keimung stattgefunden hätte, müßte man annehmen, daß die Konidien bereits Säure von ihrer Keimung nach außen befördern; ob das möglich ist, müssen weitere Untersuchungen klarstellen. — Da zur Tötung des Aspergillus durch freies Jod sehr geringe Mengen ausreichen, so bedarf es für die Umsetzung des Salzgemisches jedenfalls auch nur Spuren von Säure. Die

1) Vergl. Gmelin-Kraut, Anorganische Chemie. Bd. II. 7. Aufl. bearb. von Friedländer. 3. Lief. p. 105—106; Dammer, Handb. d. anorg. Chemie. II, 2. p. 26.

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Bildung freien Chlors läßt sich selbst bei Anwendung größerer Mengen $KClO_3$ und Oxalsäure durch den Geruch nur nach dem Erwärmen nachweisen. Daß es sich nur um sehr geringe Mengen handeln kann, läßt sich auch schon daraus schließen, daß der Pilz auf $KClO_3$ allein ganz leidlich gedeiht. Allerdings liegen meines Wissens über die Wirkung freien Chlors auf Aspergillus oder andere Pilze keine Untersuchungen vor, aber man kann wohl annehmen, daß irgendwie erheblichere Mengen Chlors schädigend wirken.

Bei Zusatz von 4—6 Proz. $KClO_3$ zur Jodkaliumnährlösung zeigte sich (vergl. Versuch 12—14 der Tabelle XVIII) ein schwaches Wachstum, wenn auch erst nach einer Reihe von Tagen. Ob man dieser Erscheinung eine Bedeutung beimessen darf, möchte ich vorläufig unentschieden lassen. Reagenzglasversuche, in denen das Verhältnis von KJ zu $KClO_3$ unter Zusatz von Oxalsäure variiert wurde, gaben mir keinen Aufschluß über die Mengenverhältnisse des ausgeschiedenen Jods.

8. Die Wirkung des Fluornatriums.

Die Giftwirkung des Fluornatriums bezw. dessen Desinfektionskraft ist lange bekannt[1]); sie äußert sich, den Kulturen von Aspergillus zugesetzt, besonders in einer Hemmung der Konidienbildung. Die Versuche Meissners (l. c.), der die Grenzwerte für Wachstum und Konidienbildung festzustellen suchte, stimmen im wesentlichen mit den meinigen überein; schon eine Nährlösung, die 0,0025 Proz. NaFl enthält, verhindert die Konidienbildung des Aspergillus niger, obwohl sich schon am 2. Tage nach der Aussaat eine geschlossene Myceldecke entwickelt.

Abgesehen von der Beantwortung der Frage, inwieweit sich die Wirkungen des NaFl und eines anderen Giftes summieren, schien es mir im gegebenen Falle von Interesse zu sein, festzustellen, ob es nicht möglich sei, durch Zusatz irgend eines Körpers zum NaFl den Pilz zur Konidienbildung zu veranlassen. Versuche, die in dieser Richtung angestellt wurden, ergaben, daß Chlornatrium sowohl die wachstumshemmende Wirkung des NaFl, wie die Verhinderung der Konidienbildung bis zu einem gewissen Grade aufzuheben vermag.

(Siehe Tabelle XIX p. 285.)

In einer Nährlösung, die 0,01 Proz. NaFl enthält, keimte Aspergillus also schon am 1. Tage nach der Aussaat und zeigte eine nicht geschlossene Myceldecke am 3. Tage; in einer Kultur beobachtete ich am 60. Tage einige Konidien. Ein Zusatz von 0,1 Proz. NaCl war ohne Einwirkung, aber schon 0,5 Proz. NaCl bewirkte, daß sich die schwache Decke weiter entwickelte und am 10. Tage die ganze Oberfläche der Nährlösung bedeckte. Die Förderung des Wachstums durch Zusatz von 1 Proz. und 2 Proz. NaCl zeigt sich darin, daß schon am 2. Tage eine, wenn auch nicht vollkommene, Decke gewachsen war; bei weiterer Konzentration des NaCl (3—5 Proz.) ist schon am 2. Tage die Decke vollständig geschlossen und am 7. Tage bemerkt man eine Anzahl Konidien. Der Einfluß des NaCl auf die Giftwirkung des NaCl ist also unverkennbar.

Höhere Konzentrationen von Kochsalz anzuwenden, schien nicht ratsam, da schließlich eine Beeinträchtigung des Pilzwachstums infolge

1) Vergl. Loew, System der Giftwirkungen, l. c., und die dort zitierte Literatur; Loew, Die Giftwirkung des Fluornatriums auf Pflanzen (Flora. Bd. XCIV. 1905. p. 331).

Generated on 2019-09-21 17:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle XIX.
Temperatur 32° C. Schwaches diffuses Licht. Je 3 resp. 2 Parallelversuche.

		K	I-D*	D	C		K	I-D	D	C
NaFl 0,01 Proz. + NaCl 0,1 Proz.	n. Tagen	1	3	—	—	NaCl 0,1 Proz.			1	1
NaFl 0,01 Proz. + NaCl 0,5 Proz.	„ „	1	3	10	—	NaCl 0,5 Proz.			1	1
NaFl 0,01 Proz. + NaCl 1,0 Proz.	„ „	1	2	—	—	NaCl 1,0 Proz.			1	1
NaFl 0,01 Proz. + NaCl 2,0 Proz.	„ „	1	2	5 — —	—	NaCl 2,0 Proz.			1	1
NaFl 0,01 Proz. + NaCl 3,0 Proz.	„ „	1	—	2	7 — —	NaCl 3,0 Proz.			1	1
NaFl 0,01 Proz. + NaCl 4,0 Proz.	„ „	1	—	2	7 7 —	NaCl 4,0 Proz.			1	1
NaFl 0,01 Proz. + NaCl 5,0 Proz.	„ „	1	—	2	7	NaCl 5,0 Proz.			1	1
NaFl 0,01 Proz.	„ „	1	3		60 — —					

* I-D = in allen Fällen war die Nährlösung mindestens zur Hälfte mit Mycel bedeckt.

des erhöhten osmotischen Druckes auch durch das NaCl bewirkt wird[1]). — Von Interesse war es dagegen, zu erfahren, ob mit sinkendem Gehalt an NaFl auch eine entsprechend kleinere Menge NaCl die Konidienbildung veranlassen könnte.

Tabelle XX.
Temperatur $19^1/_2$—22° C. Versuchsdauer 11 Tage. Je 2 Parallelversuche.

		K	I	I-D	D	C	Bemerkungen
NaFl 0,005 Proz. + NaCl 0,5 Proz.	n. Tagen	3	5		8	6	
NaFl 0,005 Proz. + NaCl 1,0 Proz.	„ „	3		5	6	6	
NaFl 0,005 Proz. + NaCl 2,0 Proz.	„ „	3		5	7	6	
NaFl 0,005 Proz. + NaCl 3,0 Proz.	„ „	3	5		7	6	Konidienentwickelung bedeutend stärker als vorher
NaFl 0,005 Proz. + NaCl 4,0 Proz.	„ „	3	5		7	6	Desgl.
NaFl 0,005 Proz.	„ „	3	5		8	8	Ganz vereinzelte Konidien am trockenen Rande
Normale Nährlösung	„ „	3		5	7	6	Am 8. Tage schwarz von Konidien

Während also in einer Nährlösung, die 0,01 Proz. NaFl enthält, eine Konidienbildung erst durch Zusatz von 4 und 5 Proz. (in einem

1) Vergl. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896. p. 465 ff.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Falle bei 3 Proz.) erzielt wird, sehen wir hier schon bei einem NaCl-Gehalt von 0,5 Proz. eine Anzahl Konidien. Die günstigsten Resultate werden aber auch in der 0,005-proz. NaFl-Nährlösung durch 3 oder 4 Proz. NaCl erzielt, am 7. Tage war hier die Konidienbildung fast so stark wie in einer normalen Nährlösung. Allerdings tritt dann ein Stillstand ein, während in der normalen Nährlösung am 8. Tage schon die Pilzdecke schwarz von Konidien war. — Ein Unterschied in der Schnelligkeit des Mycelwachstums bei verschiedener NaCl-Konzentration läßt sich nicht deutlich wahrnehmen, wie sich denn überhaupt in den letzten Versuchen die Mycelentwickelung gegenüber dem Wachstum unter normalen Bedingungen kaum unterscheidet. Offenbar macht sich hier bereits die von Ono[1]) beobachtete stimulierende Wirkung des NaFl auf das Wachstum geltend.

Daß in den Lösungen, die nur NaFl enthielten, einmal am 60. und einmal am 8. Tage einige Konidien gefunden wurden, darf wohl als Ausnahme betrachtet werden. Zudem fanden sie sich nur ganz vereinzelt am trockenen Rande, also an einer Stelle, wo das Mycel kaum Nährlösung zur Verfügung hatte; Trockenheit und Nährstoffmangel[2]) haben dann bewirkt, daß sich ein paar Konidienträger entwickeln konnten.

Worin nun der Einfluß des NaCl auf die Konidienbildung zu suchen ist, muß einstweilen dahingestellt bleiben. Man konnte an Doppelsalzbildungen denken, aber darüber ist nichts bekannt. Solange wir nicht wissen, worauf die eigentümliche Fähigkeit des NaFl beruht, trotz des guten Mycelwachstums des Pilzes die Konidienbildung zu verhindern, wird es auch wohl ziemlich aussichtslos sein, über die entgegengesetzte Wirkung des NaCl Vermutungen zu hegen. — In Mischungen des NaFl mit $CuSO_4$, Karbolsäure, Salicylsäure u. a. verhinderte das NaFl stets die Konidienbildung.

Schlußbemerkungen.

Ueberblicken wir kurz die Ergebnisse der mitgeteilten Untersuchungen, so fällt vor allem auf, daß das Pepton der Nährlösung fast überall als äußerst störend empfunden wurde. Wir erkennen daraus, wie notwendig es ist, die Zusammensetzung der Nährlösung so zu wählen, daß etwaige Veränderungen durch zugesetzte dritte Körper mit Sicherheit erkannt werden können. Außerdem wird man aber möglichst zu verhindern suchen, daß das Gift, welches man auf seine Wirksamkeit studieren will, keine chemische Umsetzung durch einen Bestandteil der Nährlösung erfährt; denn nur in diesem Falle läßt sich die Frage nach der Wirkung einigermaßen exakt beantworten. Wenn hingegen $CuSO_4$, $HgCl_2$, Karbolsäure in der Nährlösung Niederschläge hervorrufen, oder wenn Chinin und Karbolsäure und diese wiederum mit der Nährlösung schwerlösliche, unlösliche oder erst in Säuren lösliche Verbindungen eingeht, dann haben wir es nicht mit der Wirkung der zugesetzten Körper, sondern mit zum Teil komplizierten Verbindungen zu tun, deren Verhalten im vorliegenden Falle an sich ja interessante Tatsachen liefern kann, die zu studieren aber eigentlich nicht beabsichtigt war. — Alle Folgerungen, die bezüglich der Wirkungen eines Giftes auf einen Pilz in Nährlösung gezogen werden, gelten nur für den vorliegenden Fall

---

1) Ono, Wachstumsbeschleunigung einiger Algen und Pilze durch chemische Reize. (Journ. Coll. Sc. Univ. Tokyo. Vol. XIII, 1. 1900; zit. bei Loew, l. c. Flora. Bd. XXIV. 1905. p. 33.)

2) Klebs, l. c. p. 466. Pfeffer, Physiol., II, p. 248.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und dürfen im allgemeinen nicht generalisiert werden. — Außerdem haben wir es, worauf oben schon hingewiesen wurde, nicht nur mit den Komponenten der Nährlösung zu tun, sondern auch mit den Ausscheidungsprodukten des Pilzes, die wiederum von der Nährlösung abhängig sind. Daß nun auch von diesen Ausscheidungsprodukten die der Nährlösung zugesetzten Gifte beeinflußt werden können, zeigen die Versuche mit Jodkalium und Kaliumchlorid, die durch die ausgeschiedene Säure zersetzt werden. — Aus den Untersuchungen Wehmers[1]) wissen wir nun, daß unter bestimmten Bedingungen, nämlich bei geeigneter Zusammensetzung des Nährsubstrates, die Oxalsäureausscheidung unterbleiben kann; in diesem Falle würde demnach auch eine Giftwirkung des $KJ + KClO_3$ ausbleiben müssen. Aehnliche Beziehungen zwischen Nährlösung und Stoffwechselprodukten des Pilzes und andererseits zwischen letzteren und den der Nährlösung zugesetzten Giften werden sicher noch vielfach bestehen; man sollte sich darum bemühen, möglichst genau die Veränderungen, die während des Pilzwachstums in der Nährlösung vor sich gehen, kennen zu lernen, bevor man die Gifte prüft. — Da sich indessen die soeben erörterten Ueberlegungen erst im Verlauf meiner Untersuchungen ergaben, und die für viele Fälle sich als unzureichend erweisende Versuchsanstellung vorher als solche nicht erkannt werden konnte, war es ganz selbstverständlich, daß ich mich an die vorliegenden Untersuchungen Pulsts und Meissners (l. c.) hielt. — Es handelt sich in meinen Versuchen lediglich um Reaktionen außerhalb des Organismus, also um chemische Wirkungen im Sinne der Toxikologen; nur über die Wirkung des $NaFl + NaCl$-Gemisches herrscht insofern Unklarheit, als nicht zu erkennen war, ob hier extracelluläre chemische Veränderungen im Spiel waren, oder ob etwa durch uns unbekannte Vorgänge im Innern der Zelle die Bedingungen für die Konidienbildung geschaffen wurden. Ueber die Wirkung der Gifte auf das Plasma, auf Enzymbildung und andere Partialfunktionen, über die Durchlässigkeit der Plasmahaut u. s. w. wurden keine Untersuchungen angestellt, ebenso wurde die Temperaturfrage nur gestreift, da ich aus äußeren Gründen[2]) gezwungen war, eine Anzahl Versuche bei Zimmertemperatur, anstatt unter optimalen Bedingungen anzustellen. Infolgedessen stimmen die Resultate vielfach nicht untereinander überein; da jedoch überall Kulturen auf normaler Nährlösung zum Vergleich herangezogen wurden, so läßt sich erkennen, daß für die meisten Fälle keine wesentlichen Unterschiede vorhanden waren, wenigstens nicht in prinzipieller Hinsicht. Wo das doch der Fall zu sein schien, ist es im Text bemerkt.

Zum Schluß mögen einige der rein tatsächlichen Ergebnisse hier kurz zusammengefaßt werden:

1) Chininchlorhydrat wirkte bedeutend giftiger, als nach den bisherigen Angaben erwartet wurde. Die Giftigkeit läßt sich vollständig aufheben, wenn so viel Salzsäure zugesetzt wird, als zur Bildung des

---

1) Wehmer, Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze. (Bot. Ztg. 1891. p. 437.) — Vgl. auch Wehmer, Die Pilzgattung Aspergillus. (Mém. soc. de phys. et d'hist. natur. de Genève. T. XXXIII. partie 2, No. 4.)

2) Die Arbeit wurde vor längerer Zeit im Leipziger botan. Institut begonnen; da das geräumige Wärmezimmer, das mir in Leipzig zur Verfügung stand, natürlich nicht durch einen Thermostaten, wie ich ihn hier benutzte, ersetzt werden kann, so mußte eine größere Reihe der Versuche unter ungünstigeren Temperaturverhältnissen angestellt werden, wenn die Untersuchungen nicht gar zu lange Zeit in Anspruch nehmen sollten.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sekundären Salzes erforderlich ist; die Menge des Chinins scheint dann gleichgültig. — Salzsäure wirkt nur dann giftig, wenn sie im Ueberschuß und in genügender Konzentration vorhanden ist.

2) Kupfersulfat und Chinin, ebenso Karbolsäure und Chinin mit oder ohne Salzsäure, summieren sich bezüglich ihrer Giftwirkung; indessen sind die Resultate nicht immer eindeutig wegen chemischer Veränderungen durch das Pepton der Nährlösung.

3) Die Wirkung des Kupfersulfats scheint durch Salzsäure verstärkt, die der Karbolsäure abgeschwächt zu werden.

4) Die toxische Wirkung der Salicylsäure läßt sich durch Salzsäure-Zusatz ziemlich erheblich steigern.

5) Ebenso wirkt Quecksilberchlorid giftiger bei Gegenwart von Chlornatrium oder Salzsäure in der Nährlösung, als wenn es allein zugesetzt wird.

6) Jodkalium und Kaliumchlorat für sich allein der Nährlösung zugesetzt, wirken wenig giftig; werden sie gleichmäßig dargeboten, so wirken sie durch das ausgeschiedene Jod sehr giftig. Die Ursache der Jodausscheidung ist durch die Oxalsäurebildung des Aspergillus bedingt.

7) Die Konidienbildung unterdrückende Wirkung des Fluornatriums kann bis zu einem gewissen Grade durch Chlornatrium aufgehoben werden.

Berlin-Dahlem, Pflanzenphysiol. Institut der K. Gärtner-Lehranstalt, Febr. 1907.

Corrigendum.

In der Arbeit von C. Wehmer, Zur Kenntnis einiger Aspergillus-Arten. Bd. XVIII. Jg. 1907. p. 395 Zeile 21 muß es im Abschnitt Kristallform des Calciumoxalats in Asp. niger-Kulturen statt Rhomboeder heißen: Rhombus.

Inhalt.

Fuhrmann, Franz, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. (Schluß), p. 221.

Harrison, F. C. and **Barlow, B.**, The nodule organism of the Leguminosae — its isolation, cultivation, identification and commercial application, p. 264.

Huss, Harald, Zur Charakteristik einer neuen, aus sterilisierter Dosenmilch isolierten Bakterie „Plectridium novum“, p. 256.

Koestler, Guido, Der Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien. (Forts.), p. 236.

Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. (Forts.), p. 202.

Omelianski, W., Kleinere Mitteilungen über Nitrifikationsmikroben, p. 263.

Swellengrebel, N. H., Zur Kenntnis der Zytologie der Bakterien, p. 193.

Wächter, W., Zur Kenntnis der Wirkung einiger Gifte auf Aspergillus niger. (Schluß), p. 272.

Corrigendum, p. 288.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 10. August 1907.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 10/12.

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Mitteilungen über im Jahre 1906 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten auf dem Gebiete der Zuckerrüben- und Kartoffelkrankheiten.

Von **A. Stift.**

A. Zuckerrübe.

Nach der Beobachtung von Hollrung[1]) trat Atomaria linearis, das kleine Moosknopfkäferchen, welches nicht unhäufig und irrtümlich als ausschließliche Wurzelbrandursache bezeichnet wird, hier und da in ziemlichen Mengen auf. Atomaria wird aber nur bei schleppendem Wachstum der Zuckerrübenpflänzchen diesen gefährlich, weshalb es rationeller erscheint, Mittel zur Beschleunigung des Wachstums in Anwendung zu bringen, als eine aussichtslose Jagd auf das winzige, im Boden sich aufhaltende und dadurch gut geschützte Käferchen zu unternehmen. Referent[2]) ist ebenfalls der Ansicht, daß sich direkte Bekämpfungsmittel bei der vorzugsweise in der Erde stattfindenden Tätigkeit des Schädlings kaum jemals geben lassen; in Bezug auf das von verschiedenen Seiten empfohlene Imprägnieren des Rübensamens wurde bestimmt erwiesen, daß eine Behandlung des Rübensamens in einer Lösung von Magnesiasulfat und Karbolsäure fast vollständig versagt hat.

Mit der Bekämpfung des Rüsselkäfers (Cleonus punctiventris Germ.) hat sich Offinowski[3]) in mykologischer, chemischer und mechanischer Beziehung beschäftigt. Bezüglich ersterer Bekämpfungsart wurde festgestellt, daß bei Anwendung der künstlichen Muskardine, sogar in sehr großen Mengen, auf ernste Resultate nicht zu rechnen ist, da die Ansteckung die Grenze von 50—60 Proz. sehr schwer überschreitet und mehr von den günstigen Bedingungen und individueller Vorgeneigtheit als von der Menge der Muskardine abhängt. Als wahrscheinliche Erklärung dieser Tatsache kann die für die parasitischen Pilze und Bakterien allgemeine Erscheinung dienen, daß die Kultur derselben auf künstlichen Böden, welche durch die Denaturalisation der natürlichen Bedingungen des Kampfes ums Dasein begleitet wird, deren Virulität und Giftigkeit bedeutend schwächt. Von dieser Tatsache ausgehend, stellte Offinowski Versuche zur Lösung der Frage an, ob man zur Bereicherung der Böden an Muskardine nicht die künstlichen Kulturen, sondern die natürliche, an Muskardine reichere Erde als künstliches Düngemittel anwenden könnte. Zu diesem Zwecke wurden in Blechcylindern künstliche Böden hergestellt, welche teils aus dem Gemische der künstlichen Muskardine mit der gewöhnlichen Erde, teils aus dem

1) Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1906. p. 448.
2) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 30.
3) Centralblatt für die Zuckerindustrie. Jahrg. XIV. 1906. p. 807.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gemische der an Muskardine reicheren Felderde mit der gewöhnlichen Erde bereitet waren. Die mit Larven von Rüsselkäfern angestellten Versuche ergaben im allgemeinen, daß die natürliche Muskardinenerde bei gleichem Prozentverhältnis derselben im Gemisch stärker ansteckte als die künstliche Muskardinenerde allein. Was die chemischen Mittel anbetrifft, so wurden Extrakte aus Giftpflanzen hergestellt und der Vergiftungsgrad derselben mit der Wirkung des Chlorbaryums verglichen. Bestimmte Schlußfolgerungen lassen sich aus diesen Versuchen noch nicht ziehen. Von den mechanischen Bekämpfungsmitteln haben Fangvorrichtungen sehr günstige Resultate ergeben. Im allgemeinen ist aber zu bemerken, daß sämtliche Versuche Offinowskis noch einer Fortsetzung bedürftig sind, da sie noch keine bestimmte Schlußfolgerung zulassen. Scheidemann[1]) berichtet über das Auftreten des Rüsselkäfers in Ungarn, in welchem Lande Cleonus punctiventris schon seit Jahren massenhaft auftritt, und daher einen bedeutenden Schaden verursacht. Eine größere Rübenwirtschaft bezahlte in den letzten Jahren jährlich 8000 bis 9000 Kronen für das Einsammeln der Käfer durch Kinder. Da diese Arbeit, trotz der billigen Löhne, aber sehr teuer kommt, so hat man versucht, diese Schädlinge auf eine andere Weise zu vertilgen und zwar durch Bespritzen der Rübenpflänzchen mit giftigen Mitteln. Blausteinlösung, Kalkmilch, Tabakabsud, Sublimat und Arseniklösung haben sich nicht bewährt, „Rovarin“ (Schweinfurtergrün in Gemisch mit geheim gehaltenen Mitteln zwecks Emulsion und Hintanhaltung der giftigen Wirkung ersteren Präparates für die Rübenpflanze) hat sich noch nicht sehr eingebürgert. Gute Erfolge hat man mit Chlorbaryum erzielt, welches in 8—10-proz. Lösung zur Anwendung kommt, sicher wirkt (auch Mäuse und Ratten tötet), die feine Oeffnung der Peronosporaspritze nicht verstopft (wie dagegen „Rovarin“) und für die Rübenpflänzchen nicht schädlich ist. In Oesterreich hat der Rüsselkäfer, wie Referent[2]) erfahren hat, stellenweise einen Nachbau bis zu 30 Proz. notwendig gemacht und hat sogar eine weitere Verbreitung gefunden, da er speziell in Böhmen in Gegenden aufgetreten ist, wo er bisher noch unbekannt war. Bemerkenswert ist, daß diese Käfer Petroleum nicht zu vertragen scheinen, doch verbietet sich leider die Verwendung dieses Mittels von selbst.

Nach der Beobachtung von Hollrung[3]) hatte sich die Gammaraupe (Plusia) mit ihren an die durch Hagel hervorgerufenen Beschädigungen erinnernden Blattdurchlöcherungen über ganz Deutschland bemerkbar gemacht und stehen gegen diesen Schädling, sofern er erst einige Fortschritte gemacht hat, keinerlei für den Großbetrieb geeignete Mittel zur Verfügung; wenn nicht Krähen oder Stare den Vernichtungskampf gegen diese Raupe aufnehmen, sind ihr die Rüben vollständig preisgegeben. Da die Raupe vielfach aus Nachbarplänen in die Rübenäcker einwandert, so kann das Insekt, wenn rechtzeitig bemerkt, durch Ziehen von Fanggräben und eventuell durch Einpflügen der Randreihen vernichtet werden. Nach der Beobachtung von Auzat wurden die Zuckerrübenkulturen des Zentralplateaus von Frankreich in erheblichem Maße (bis zu 90 Proz.) durch Raupen derart beschädigt, daß diese Tiere nicht nur den Blattapparat vernichteten, sondern auch in den Kopf der

1) Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1906. p. 621.
2) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 30.
3) Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1906. p. 448.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Rüben 2—3 cm tiefe Löcher fraßen. Giard[1]) glaubte ursprünglich die Raupen des Schmetterlings Lexostega (Eurycreon) sticticalis L. vor sich zu haben, berichtigte sich aber später dahingehend[2]), daß er nur infolge unvollkommener Hilfsmittel zu dieser Annahme gekommen wäre und daß es sich vielmehr um die Raupen von Lita ocellatella Boyd handle. Die Raupe besitzt die Eigentümlichkeit, sich in die kleinsten Fugen verkriechen und einem jeden, nicht vollständig hermetisch hergestellten Verschluß entschlüpfen zu können, so daß daher bei Versendung lebender Raupen große Vorsicht geboten ist, damit nicht eine Verschleppung in gesunde Gegenden stattfindet. Beachtenswert ist ferner die Schnelligkeit, mit welcher sich die Farbenveränderung der Längsstreifen der Raupen vollzieht. Die Veränderung beginnt zur Zeit, wo die Raupe anfängt ihren Kokon zu bilden und scheint vom Lichte abhängig zu sein, da sie sich verzögern läßt, wenn man die Raupen ins Dunkle bringt. Die nächste auffallende Erscheinung ist, daß man schon mit unbewaffnetem Auge das Geschlecht an der Raupe erkennen kann, und zwar zur Zeit der dritten Häutung, ohne daß dabei ein Zerschneiden notwendig wäre. Die männlichen Raupen weisen nämlich im letzten Drittel der Körperlänge zwei dunkle Rückenflecke auf, welche nichts anderes als durch die Haut durchscheinende Hoden sind; dieselben erscheinen unter dem Mikroskop bei geringer Vergrößerung als nierenförmige Körperchen, die durch senkrechte Wände in 4 Fächer geteilt und mit einer dicken, stark braun gefärbten Membran umgeben sind. Zur Bekämpfung dieser Schädlinge empfiehlt Giard, die Rübenfelder peinlichst rein zu halten und namentlich die von den Raupen mit Vorliebe aufgesuchten Gänsefußarten zu entfernen.

Zur Bekämpfung der Blattläuse hat Referent[3]) eine 2-proz. Tabakextraktlösung empfohlen, die mittels einer geeigneten Zerstäubungsmaschine auf die Rübenpflanzen gespritzt wird; bei wiederholter Anwendung ist der Erfolg ein ausgezeichneter. Das Institut für Zuckerindustrie in Berlin[4]) empfiehlt gegen diese lästigen Schädlinge folgendes Rezept: Man löst 1 kg Schmierseife in wenig heißem Wasser auf, verdünnt ferner 500 g Tabakextrakt zunächst mit Wasser zu 5 l und gießt beide Flüssigkeiten dann unter Umrühren in ein größeres Gefäß, in welchem sich annähernd 50 l Wasser befinden, so daß man ungefähr eine 1-proz. Lösung erhält. Das Ueberbrausen dieser Flüssigkeit geschieht ebenfalls mittels geeigneter Streuapparate.

Nach der Beobachtung von Uzel[5]) sind in Böhmen von Schnackenlarvenarten als Rübenschädlinge die Arten Pachyrhina histrio und pratensis, ferner Tipula oleracea aufgetreten; Pachyrhina maculata kann als verdächtig gelten. Uzel gibt weiter eine Beschreibung der Entwickelung und Lebensweise der Schnacken, sowie einen Schlüssel zur Bestimmung derselben, sowie ferner Bekämpfungsmaßregeln (Sammeln der Larven, Eintreiben der Hühner, Unterwassersetzen des Grundstückes, Einfangen der Schnacken mittels Fanglaternen, Schutz der insektenfressenden Vögel, ferner der Maulwürfe, Spitzmäuse und Kröten, tiefes Einlegen der Samen und öfteres Behacken der Rüben).

---

1) Journal des Fabricans de sucre. Jahrg. XLVII. 1906. No. 42.
2) Ebenda. No. 46.
3) Blätter für Zuckerrübenbau. Jahrg. XIII. 1906. p. 169.
4) Ebenda, p. 171.
5) Zeitschrift für Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXX. 1906. p. 521.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach der Beobachtung von Hollrung[1]) war die bedenklichste Erscheinung des Jahres 1906 das stärkere Hervortreten der Rübennematoden (Heterodera Schachtii Schmidt) in Landesteilen, welche bisher noch wenig in dieser Beziehung zu leiden gehabt haben; namentlich ist in den ost- und norddeutschen Rübenbaubezirken die größte Vorsicht gegenüber diesem Schädling geboten. Hollrung erklärt es als wünschenswert, wenn die hier in Frage kommenden Zuckerfabriken ihren Rübenbauern die Feststellung aller irgendwie zweifelhaften Fälle zur Pflicht machen würden. Referent[2]) hat in Oesterreich ebenfalls ein Ueberhandnehmen der Rübennematode konstatiert und gilt dies namentlich für Mähren und in geringerem Maße auch für Niederösterreich. Bemerkenswert ist, daß die Fangpflanzenmethode an zwei Orten vollständig versagt hat, da hier, trotz vollständiger Verseuchung der Felder, bei mehrmonatlicher Untersuchung es nicht gelungen ist, in den Fangpflanzensaaten auch nur eine Nematode zu finden. Diese Beobachtung ist ein weiterer Beitrag für die Unverläßlichkeit dieser Methode. Zur Vertilgung der Nematoden hat Hollrung[3]) vor einiger Zeit ein Verfahren angegeben, welches auf einer direkten Bekämpfung mittels Schwefelkohlenstoff bei einem nesterhaften Auftreten dieser Schädlinge beruht. Wilfarth, Roemer und Wimmer[4]) haben sich nun mit dieser Frage weiter eingehend beschäftigt und in Verbindung damit auch die Wirkung der Nematode auf die Vegetationserscheinung der Zuckerrübe in den Bereich ihrer Beobachtungen gezogen. Zu diesem Behufe wurde stark nematodenhaltige Erde mit Schwefelkohlenstoff gleichmäßig vermischt (100 kg Erde mit 0,5 kg Schwefelkohlenstoff), 3 resp. 14 Tage der Einwirkung desselben ausgesetzt, hierauf noch 3 Tage in dünner Schicht an der Luft ausgebreitet, um allen Schwefelkohlenstoff entweichen zu lassen, und dann in Mengen von je 30 kg in Kulturgefäße eingefüllt. Zwei Kulturgefäße erhielten die gleichen Mengen unbehandelter Erde. Jedes Gefäß wurde ferner mit der nötigen Menge der Nährstoffe in löslicher Form versehen. Die Aussaat erfolgte am 10. Mai (pro Topf 10 Samen) und die Samen wurden vorher 20 Stunden in 0,5-proz. Karbolsäure gebeizt. Am 22. Juni wurden die Pflanzen in allen Töpfen bis auf eine Pflanze verzogen, wobei es sich herausstellte, daß in der nicht mit Schwefelkohlenstoff behandelten Erde, resp. in diesen Töpfen, eine größere Anzahl von Pflanzen an wurzelbrandartigen Erscheinungen, veranlaßt vielleicht auch mit durch die Einwirkung der zahlreich vorhandenen Nematoden, zu Grunde gegangen waren, im Gegensatze zu den anderen Töpfen, wo keine einzige Pflanze abstarb. Die Ernte erfolgte am 26. Oktober, worauf dann die Rüben einer eingehenden chemischen Untersuchung zugeführt wurden. Wie nun der Berichterstatter Wimmer ausführt, so sollen die Versuche zeigen, daß es in natürlichen, mit Schwefelkohlenstoff behandelten Böden gelingt, Rüben von durchaus normaler Größe und Beschaffenheit zu ziehen, während in demselben nicht behandelten Boden Rüben von ganz abnormer Zusammensetzung wuchsen, Rüben, welche alle diejenigen Mängel aufwiesen, welche die genannten Autoren in einer früheren Arbeit als Merkmale der Nema-

---

1) Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1906. p. 449.
2) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 34.
3) Flugblatt No. II der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 2. Aufl. September 1905.
4) Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1906. p. 1.

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

todenbeschädigung geschildert hatten. In Bestätigung dieser früheren Befunde wurde neuerdings gefunden, daß durch die Nematoden den Rüben alle wichtigen Nährstoffe in sehr erheblicher und nahezu gleicher Weise entzogen werden. Während der Nematodenschaden in den mit Schwefelkohlenstoff behandelten Böden absolut nicht zur Geltung kam, trat er jedoch in dem rohen Boden in allen seinen Einzelheiten klar zu Tage. Den geschädigten Rüben wurden wieder Stickstoff, Phosphorsäure, Kali und Magnesia in erheblicher Menge entzogen, ferner fand wie früher eine gesteigerte Kalkaufnahme statt, für welche Erscheinung aber vorläufig noch keine ausreichende Erklärung zu finden ist. Gelingt es also, eine Desinfektion des Bodens mit Schwefelkohlenstoff auch nur einigermaßen durchzuführen, so unterliegt es nach der Ansicht Wimmers keinem Zweifel, daß dadurch der Nematodenschaden wesentlich eingeschränkt oder sogar verhindert werden kann, zumal noch die Wirkung des Schwefelkohlenstoffes in bakteriologischer Hinsicht hinzukommt. Wimmer[1]) hat sich fernerhin in einem Vortrage mit der Frage beschäftigt, ob der Nematodenschaden durch Düngungsmaßregeln verhütet werden kann, und beantwortet diese Frage dahin, daß dies durch eine stärkere Düngung wohl möglich wäre, da dann die gekräftigten Rüben den Angriffen der Nematoden besser wiederstehen könnten. Diese Art der Bekämpfung ist aber nur möglich durch eine gleichzeitige starke Düngung mit Stickstoff, Kali und Phosphorsäure. Die Versuchsstation Bernburg hat wiederholt festgestellt, daß die Nematoden den Rüben alle Nährstoffe in erheblicher Weise entziehen, daß aber die Nematodenrüben überschüssige Nährstoffe mühelos aufnehmen. Durch eine Ueberschußdüngung wäre es also möglich, den Nematodenschaden zu bekämpfen und die Nematodenfrage ihrer Lösung zuzuführen. Die Befürchtung, daß die Rüben bei einer allgemeinen Ueberschußdüngung so salzreich werden, daß sie sich schwer verarbeiten lassen, ist bei einer richtigen Ausführung unbegründet, da den Rüben nur das ersetzt werden soll, was ihnen durch die Nematoden entzogen wurde. Als Haupteinwurf könnte nur Geltung haben, daß der Rübenbau durch eine derartige Ueberschußdüngung nicht mehr oder nicht mehr genügend gewinnbringend würde. Eine Entscheidung könnten nur Düngungsversuche bringen. Wimmer ist aber der Ansicht, daß eine Ueberschußdüngung vielfach praktisch und mit Erfolg nutzbar gemacht werden könnte.

Einer besonderen Aufmerksamkeit seitens der Forschung hatte sich der Wurzelbrand zu erfreuen, welcher wohl als die am längsten bekannte Krankheit der Zuckerrübe anzusprechen ist, da schon im Jahre 1812 Anton Richter in Königsaal bei Prag auf dieselbe hingewiesen hat. Es kann ruhig behauptet werden, daß keine Rübenkrankheit im Laufe der vielen Jahre derartige Wandlungen in den Ansichten über die Ursachen und demgemäß auch über die Bekämpfung erfahren hat, wie der Wurzelbrand. Welche verschiedenen Meinungen über die Ursache dieser Krankheit noch herrschen, zeigt deutlich das Jahr 1906. Stoklasa[2]) ist der Ansicht, daß das Schwarzwerden der Rübenwürzelchen ein Oxydationsprozeß der Chromogene in dem absterbenden Protoplasma ist, während das lebende Protoplasma der Pflanzenzellen die in demselben enthaltenen Chromogene im reduzierten Stande erhält. Zur schnellen Entwickelung der Keimpflänzchen und der Fähigkeit, der Infektion zu widerstehen, ist vor allem eine vollständige Durchlüftung des Bodens notwendig.

1) Die Deutsche Zuckerindustrie. Jahrg. XXXI. 1906. p. 18.
2) Blätter für Zuckerrübenbau. Jahrg. XIII. 1906. p. 193.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn im Boden keine hinreichende Luftzirkulation vorhanden ist, entsteht in der Ackerkrume ein Mangel an Sauerstoff, wodurch die Würzelchen in ihrem normalen Atmungsprozeß verhindert werden, sich in einem pathologischen Zustande befinden und dann eine große Empfindlichkeit gegen Infektion verschiedenartiger Parasiten (Pilze und Bakterien) aufweisen. Da die Bakterien- und Pilzflora nicht in allen Böden gleich ist, so erklärt sich daraus auch die Erscheinung, daß seitens der Forschung verschiedenartige Erreger des Wurzelbrandes gefunden wurden. Der Wurzelbrand ist nur einer ungünstigen Bodenbeschaffenheit zuzuschreiben und es liegt lediglich in der Hand des Rübenbauers, sich selbst davon zu überzeugen, daß bei allen Rübenböden ohne genügende Luftkapazität (Fehlen einer gründlichen Bearbeitung des Bodens) die Gefahr des Auftretens der Krankheit droht. Für die Zukunft erklärt es Stoklasa als wünschenswert, wenn alle Forscher die größte Aufmerksamkeit der Wasser- und Luftkapazität des Bodens, auf welchem der Wurzelbrand entstanden ist, widmen würden, denn dann ist erst Hoffnung vorhanden, daß den Wurzelbrandentdeckungen einmal ein Ende gemacht würde. Dies wird wohl einstweilen noch ein frommer Wunsch bleiben, wie die folgend hervorgehobenen Arbeiten zeigen. Nach der Ansicht von Brzezinski[1]) liegt die direkte Ursache des Wurzelbrandes in einem neuen Parasiten, Myxomonas betae, dessen Entwickelung eingehend beschrieben wird und der auch die Herz- und Trockenfäule verursacht. Brzezinski nimmt auch auf Grund der Lebensweise des Pilzes an, daß Wurzelbrand und Herz- und Trockenfäule (letztere Krankheiten stellen nur Modifikationen einer und derselben Krankheit dar) dieselben Krankheiten sind, sowohl vom Standpunkte der direkten Entstehungsursache als auch vom Standpunkte der pathologischen Veränderungen in den Geweben selbst; der Unterschied in den äußeren Kennzeichen dieser Krankheiten ist nur von dem Alter und der Größe der Pflanze zu Beginn der sichtbaren Erkrankung abhängig. In Anbetracht der Lebensweise der Myxomonas betae ist Brzezinski auch der Ansicht, daß die Infektion des Bodens durch diesen Parasiten eine der Ursachen, wenn nicht die Hauptursache selbst, jenes Zustandes sein dürfte, welchen man in der Rübenkultur mit dem Namen „Rübenmüdigkeit" bezeichnet. Man wird wohl einstweilen guten Grund haben, den Ansichten Brzezinskis mit Vorsicht entgegenzukommen und weitere Mitteilungen über den ganz merkwürdigen Pilz Myxomonas betae abzuwarten. Peters[2]) stellt sich durch seine Untersuchungen wieder auf den Standpunkt früherer Forscher, da er nämlich gefunden hat, daß Pythium de Baryanum Hesse junge Rübenpflanzen vor dem Auflaufen abzutöten und auch noch bei späterer Infektion junge, kräftig entwickelte Pflanzen zu infizieren und zum Teil zu Grunde zu richten vermag, wie sich auch bei Versuchen mit Phoma betae Frank mit Sicherheit ergab, daß dieser Pilz als obligater Wurzelbranderreger aufzufassen ist. Ferner hat Peters auf zur Untersuchung eingesandten wurzelbrandigen Pflanzen in nicht geringer Anzahl derselben nicht die beiden genannten Pilze, dagegen aber einen der Saprolegnieengattung Aphanomyces angehörenden Pilz gefunden und ihn als Aphanomyces laevis de Bary angesprochen; infolge seines häufigen Vorkommens im Gewebe

1) Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie. März 1906. Durch Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 621.

2) Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXXIII. 1906. p. 552.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kranker Rübenpflanzen sei derselbe ebenfalls zu den Erregern des Wurzelbrandes zu zählen. Nach Peters besteht die Möglichkeit, daß mit den 3 Pilzen die Liste der Wurzelbranderreger nicht abgeschlossen ist und daß auch noch andere Pilze in Frage kommen, die sich bisher der Beobachtung entzogen haben. Die genannten 3 Parasiten üben bisweilen auf einem und demselben Felde neben- und miteinander ihre schädlichen Wirkungen aus, während an anderen Orten nur 2 von ihnen oder gar nur einer als Wurzelbranderreger auftritt. Trzebinski[1]) hat als Erreger des Wurzelbrandes, neben Phoma betae Fr. und Pythium de Baryanum Hesse, noch 2, in der Literatur noch nicht beschriebene Pilze festgestellt und zwar einen aus der Familie Chytridiaceae und den anderen aus der Gruppe Fungi imperfecti. Ferner hat er beobachtet, daß der die Blätter der erwachsenen Rüben beschädigende Pilz Sporidesmium putrefaciens Fekl., wenigstens unter den Bedingungen des Laboratoriumsversuches, ebenfalls den Wurzelbrand hervorrufen kann. Phoma und Pythium und der neu entdeckte Pilz aus der Gruppe Fungi imperfecti befinden sich stets in Form von Sporen in den Vertiefungen der Fruchthülle, wohin sie durch den Wind mit dem Staub zusammen gelangen und die Sporen fangen dann bei der Aussaat dieser Knäule in den Boden, resp. während des Vorquellens derselben, zu wachsen an. Sporidesmium und der neue Pilz aus der Familie Chytridiaceae beginnen ihre Entwickelung auf den Samenrüben, auf den Blüten oder reifenden Knäulen, weshalb man auf der Oberfläche und in den Fruchthüllen der letzteren stets das Mycelium dieser Pilze mit den fruchttragenden Organen vorfindet. Die Hauptquelle, welche den Boden mit den Sporen der parasitischen Pilze des Wurzelbrandes bereichert, stellen die kranken und an Wurzelbrand abgestorbenen Rübenpflanzen dar, auf denen das Mycelium verschiedenartige Vermehrungsorgane entwickelt, welche überwintern und im nächsten Frühjahre die jungen Rübenpflanzen anstecken. Unterschiedliche Bekämpfungsversuche — Vorquellen der Knäule, Beizung derselben mit Kupfervitriol, Karbolsäure und Formalin, Aussaat der Knäule mit kohlensaurem Kalk, Superphosphat und Salpeter — fielen zumeist ungünstig oder undeutlich aus, so daß die Ergebnisse kein bestimmtes Bild gaben und einer Wiederholung bedürftig sind. Nach den fortgesetzten Studien von Busse und Peters[2]) hat sich von neuem ergeben, daß unter dem Namen „Wurzelbrand" eine Reihe, in äußeren Erscheinungen übereinstimmender, ihren Ursachen nach jedoch verschiedener Erkrankungen der jungen Rübe zusammengefaßt wird, so daß demgemäß von einer einheitlichen Bekämpfungsart kaum eine Rede sein kann. Ferner hat sich gezeigt, daß die Ursache der Erkrankung — soweit es sich dabei um parasitische Pilze handelt — in erster Linie in solchen Parasiten zu erblicken ist, die im Erdboden des betreffenden Feldes vegetieren, ungleich seltener aber die Krankheit von den dem Saatgut anhaftenden Keimen hervorgerufen wird. Dadurch wird die Bekämpfung der Krankheit wesentlich erschwert, weil an eine direkte Vernichtung der im Boden lebenden Parasiten nicht gedacht werden kann. Kühle[3]) bespricht in einem Vortrage die verschiedenen bekannten und in letzter Zeit bekannt gewordenen Erreger des Wurzelbrandes, durch deren Natur und Auf-

1) Centralblatt für die Zuckerindustrie. Jahrg. XV. 1906. p. 175.

2) Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 1. Jahresbericht. 1906. Heft 2. p. 12.

3) Die Deutsche Zuckerindustrie. Jahrg. XXXI. 1906. p. 1601.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

treten die Erkennung der Formen der Krankheit dem Laien sehr schwer gemacht wird. Es erscheint daher in erster Linie notwendig, der Krankheit vorzubeugen und zwar durch Stärkung der Vegetationskraft der jungen Rüben durch reichliche Saat, richtige Wahl der Vorfrucht, sorgfältige Bodenbearbeitung und Durchlüftung, ausreichende Drainage, sorgfältiges Vereinzeln und Behacken. Wenngleich der Rübensamen nur zum Teil für den Wurzelbrand verantwortlich gemacht wird, so erscheint aber doch die Forderung, den Samen selbst nach Möglichkeit von den anhaftenden Infektionserregern zu befreien, nicht unberechtigt. Die praktische Verwirklichung dieser Forderung ist Kühle nach dem seinerzeitigen Vorschlage von Linhart[1]) der mechanischen Entfernung der Mikroorganismen durch das maschinell durchgeführte Schälen des Rübensamens gelungen. Die Methode besteht darin, daß die den Rübensamen umgebende Perigonhülle, in der der Sitz der Mikroorganismen zu suchen ist, durch Schälen entfernt und der Samen dann zweckentsprechend desinfiziert und hierauf getrocknet wird. Versuche haben festgestellt, daß der geschälte und desinfizierte Samen eine nicht unwesentliche Ueberlegenheit über den unbehandelten gezeigt hat. Ueber den Wert des Schälens des Rübensamens sind übrigens die Meinungen noch sehr geteilte und speziell Hollrung[2]) hält diese Operation für eine keineswegs empfehlenswerte Maßnahme. Das seinerzeit von Hiltner und Peters[3]) empfohlene, seitens der Praxis bis jetzt noch nicht beachtete Verfahren, die auszusäenden Rübenknäule, in solchen Fällen, wo die Entstehung des Wurzelbrandes oder ein mangelhaftes Auflaufen zu befürchten ist, vorher anzufeuchten und dann mit kohlensaurem Kalk zu kandieren, wurde von Busse und Peters[4]) einer Prüfung in größerem Maßstabe unterzogen, welche jedoch noch kein abschließendes Urteil zuläßt. Im Zusammenhang mit der Prüfung des Kandierungsverfahrens und von gleichem Prinzip ausgehend wurde auch der Einfluß einer Vorbehandlung der Rübenknäule mit Kalkwasser geprüft, und der Erfolg war hier ebenso wechselnd, wie der der Kandierung. In ihrer früher zitierten Arbeit haben Hiltner und Peters das Beizen des Rübensamens mit konzentrierter Schwefelsäure zwecks Verhinderung von Keimlingskrankheiten in dem Falle empfohlen, wenn die Rübensaat an Hartschaligkeit leidet und ferner die Beobachtung gemacht, daß sich das Vorkeimen gebeizter Rübenknäule in Sand als eine ungemein nützliche Maßregel erwies, da sich dadurch die Zahl der auflaufenden Pflanzen sehr beträchtlich erhöht hat. Die von Urlich[5]) in derselben Richtung hin angestellten Versuche haben nun das Resultat ergeben, daß unter den bestandenen Boden- und klimatischen Verhältnissen das Beizen sowohl wie das Vorkeimen der Rübenknäule keinen Einfluß auf den Ernteertrag gehabt hat. Gegen die Imprägnierung des Rübensamens, zu dem Zwecke, um den Wurzelbrand auf dem Felde zu verhüten, spricht sich Komers[6]) aus, da einerseits die nachträgliche Invasion der Krankheitserreger aus dem Boden nicht verhütet werden kann und andererseits

---

1) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXVIII. 1899. p. 443.

2) Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1906. p. 447.

3) Arbeiten aus der Biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserlichen Gesundheitsamte. Berlin. Bd. IV. 1904. p. 207.

4) Mitteilungen aus der Kaiserlichen biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 1. Jahresbericht. 1906. Heft 2. p. 12.

5) Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXXIII. 1906. p. 382.

6) Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LVI. 1906. p. 117.

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ein Rübensamen von tadelloser Qualität keine Präparierung braucht. Derselben Ansicht ist auch Briem[1]) vom Standpunkte des praktischen Rübenzüchters, der sich ebenfalls dahin ausspricht, daß dem gesunden, frischen Samen allein das Recht der Anerkennung gebührt. Gelegentlich einer eingehenden Arbeit über die Wertbestimmung des Rübensamens kommen Komers und Freudl[2]) auch auf die vielumstrittene Frage der Begutachtung des Rübensamens in Bezug auf kranke Keime zu sprechen und äußern ihre Ansicht dahin, daß es sich bei der Wertbestimmung des Rübensamens als Saatgut nicht um die Feststellung handeln wird, ob Krankheitskeime vorhanden sind oder nicht, sondern daß es vielmehr darauf ankommen wird, wie viel Keime selbst unter den günstigsten Bedingungen des Keimbeetes sich nicht zu behaupten vermögen und daher im Freilande sicher eingehen werden. Um nun künftighin ungerechtfertigten und unbilligen Auslegungen der Angaben des Untersuchungsbefundes vorzubeugen, erscheint es daher dringend geboten, einen Grenzwert zu fixieren, bis zu welchem die etwa auftretenden kranken Keime als bedeutungslos nicht zu beanstanden wären. Nach den Erfahrungen der genannten Autoren kommen hier und da kranke Keime bis zu etwa 4—5 Proz. der Keimziffer selbst bei Rübensamen vor, die sich dennoch mit Rücksicht auf ihre hohe Keimungsenergie und die kräftige Entwickelung aller übrigen Keime zu Saatzwecken zweifellos noch sehr gut eignen. Je geringer jedoch die relative Widerstandsfähigkeit eines Rübensamens ist, desto mehr Keime werden schon im Keimbette erkranken. Ein Rübensamen, der den sonstigen Anforderungen entspricht und auch hinsichtlich der kranken Keime den Grenzwert nur wenig überschreitet, wird sich unter günstigen Verhältnissen noch immer als brauchbares Saatgut bewähren; hingegen wird man in Gegenden, wo der Wurzelbrand ein häufiger Gast ist, aus Vorsicht besser nur Rübensamen verwenden, der zumindestens den Grenzwert nicht überschreitet. Durch die Angaben über die Widerstandsfähigkeit des Rübensamens würde auch ein Impuls zu einer rationelleren Samenkultur in dem Sinne gegeben sein, als die Aufmerksamkeit der Rübenzüchter auch der Widerstandsfähigkeit und Raschwüchsigkeit der Keimpflanzen zugewendet würde. Komers und Freudl sind schließlich ebenfalls der Ansicht, daß nicht durch Imprägnierungs- und Desinfektionsverfahren, sondern nur durch Einbeziehung des hervorgehobenen Momentes in das Ausleseverfahren der Rübensamenzüchtung dem Uebel des Wurzelbrandes wirkungsvoll gesteuert werden kann, allerdings nur so weit, als die Qualität des Samens selbst einer der vielen Faktoren des Wurzelbrandes ist.

Die Herz- und Trockenfäule ist nach den Beobachtungen Hollrungs[3]) im Jahre 1905 gegenüber dem Vorjahre wesentlich zurückgetreten, ein erneuerter Beweis dafür, daß Pilze, insbesondere Phoma betae, eine nebensächliche Rolle bei dieser Krankheit spielen. Aehnliche Beobachtungen hat auch Referent[4]) gemacht und dort, wo die Krankheit stärker aufgetreten ist, haben sich die Rüben bei Eintritt günstigen Wetters sehr gut erholt und normale Ernten gebracht.

1) Centralblatt für die Zuckerindustrie. Jahrg. XIV. 1906. p. 618.

2) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 516

3) Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. LXIII. 1906. p. 450.

4) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 36.

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die Schorferkrankungen waren nach Busse und Peters[1]) im Jahre 1905 besonders häufig und zwar in den verschiedensten Teilen Norddeutschlands. In einigen Gegenden hatte der sogenannte „Gürtelschorf" im Juli empfindliche Verheerungen zur Folge und mit dieser Krankheit trat gleichzeitig der „Dauerwurzelbrand" auf. Da sämtliche Uebergänge, von schwach hervortretendem Dauerwurzelbrand bis zu hochgradig vorgeschrittenem Gürtelschorf auf denselben Schlägen gefunden wurden, so wird daraus die Vermutung gestützt, daß der Dauerwurzelbrand auch in die Kategorie der Schorfkrankheiten zu rechnen ist. Die Häufigkeit und Intensität der Schorferkrankungen legen nach an Ort und Stelle ausgeführten Beobachtungen die Vermutung nahe, daß die seltene Höhe der Niederschläge von förderlichem Einfluß auf die Krankheit gewesen ist. Ein ausgedehnteres Auftreten des sogenannten „Flachschorfes" hatte zu keiner Verminderung der Ernte geführt. Nach der Beobachtung des Referenten[2]) stand bei untersuchten Rüben aus Frankreich die Höhe des Zuckergehaltes deutlich mit der Entwickelung des Rübenschorfes im Zusammenhang. Ein anderer Fall illustriert in drastischer Weise die Beständigkeit des Schorfes auf einem bestimmten Ackerstück. Schon vor mehr als 30 Jahren zeigte sich nämlich die Erscheinung, daß hier Zucker- und Futterrüben regelmäßig erkrankten, so daß damals beschlossen wurde, dieses Feld überhaupt vom Rübenbau auszuschließen. Als man vor 10 Jahren nun wieder den Anbau von Futterrüben versuchte, erkrankten diese und ebenso auch die Zuckerrüben, die vor 6 Jahren eingeschoben wurden. Angebaute Kartoffeln blieben gesund. Im Jahre 1905 kamen wieder Zuckerrüben zum Anbau, welche erkrankten und die typischen Erscheinungen des Schorfes zeigten. Daß früher die Kartoffeln nicht erkrankten, ist nicht verwunderlich, da der Rübenschorf durchaus nicht auf Kartoffeln übertragbar ist, wie auch umgekehrt Fälle bekannt sind, wo der Kartoffelschorf für die nachfolgende Rübe ohne Nachwirkung blieb. Der vorliegende Fall zeigt eine seltene Verseuchung eines Feldes durch Bakterien gegen Zucker- und Futterrüben, welcher Verseuchung vielleicht nur durch entsprechende Kulturmaßnahmen — gutes Zurechtmachen des Feldes vor dem Winter, kräftige Mistdüngung, Vermeidung einer direkten Kalkdüngung — entgegen zu arbeiten ist. Nach den Beobachtungen von Hollrung[3]) war der Gürtelschorf in einigen Gegenden Norddeutschlands ziemlich häufig und sind seiner Ansicht nach die Ursachen dieser Krankheit in einer durch mangelhaften Frost bedingten unzulänglichen Gare des Ackerbodens, genauer ausgedrückt, in einem lokalen Mangel an Bodenluft zu suchen.

Wenn auch nur selten beobachtet, so gewann aber nach Hollrung[4]) die Blattfleckenkrankheit (Cercospora beticola) dadurch an Bedeutung, daß sie verhältnismäßig zeitig, Anfang September, und ziemlich heftig auftrat. Nehmen die Blattflecken einen erheblichen Teil des Blattes ein, so muß notgedrungen hierunter der Assimilationsvorgang, also auch die Einlagerung von Zucker in der Wurzel leiden. Das Eigentümliche an dem Pilz ist, daß er jahrelang in einer Gegend nicht vorkommt, um ganz plötzlich hervorzutreten. Dieser Vorgang drängt zu der Annahme,

1) Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 1. Jahresbericht. 1906. Heft 2. p. 12.

2) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 36.

3) Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1906. p. 450.

4) Ebenda p. 449.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß die Sporen des Pilzes saprophytisch im Boden leben können, um, bei einer durch mancherlei Umstände herbeigeführten Schwächung der Rüben, sofort eine anscheinend streng parasitäre Rolle anzunehmen. Daß die Keime des Pilzes auch mit den Rübensamen verschleppt werden können, hat sich nach einer Mitteilung des Referenten [1]) neuerdings bei einem Anbauversuch in Frankreich gezeigt. Auf einem Versuchsfelde von 12 ha wurden sechs verschiedene Rübensamensorten angebaut, von welchen alle bis auf eine Samensorte gesunde Pflanzen brachten. Nur diese Rüben waren stark von der Krankheit befallen, was eben die hervorgehobene Verschleppungsfähigkeit durch den Samen beweist.

Im Kreise Limburg ist eine ansteckende Krankheit der Runkelrübe aufgetreten und es hat sich hier nach der Untersuchung von Lüstner [2]) um die Herzblatt- oder Kräuselkrankheit, hervorgerufen durch Peronospora Schachtii, gehandelt.

Appel und Bruck [3]) haben die Einflüsse studiert, denen landwirtschaftliche Kulturpflanzen durch Sclerotinia Libertiana Fuckel ausgesetzt sind und dabei auch Zucker- und Futterrüben in den Kreis der Untersuchung gezogen. Wie schon de Bary nachgewiesen hat, ruft der Pilz durch Ausscheiden eines ungeformten Fermentes, welches in saurer Lösung die Zellwände auflöst, den Zersetzungsprozeß der Gewebe der Wirtspflanzen hervor; erst der durch den ausgeschiedenen Giftstoff aus den abgestorbenen Zellen herrührende Saft dient dem Pilz als Nährmedium. Zucker- und Futterrüben erwiesen sich noch am widerstandsfähigsten, wenngleich auch der Schaden durch auftretende Faulstellen am Rübenkörper und Vernichtung der Köpfe — namentlich in Mieten und Kellern — ein nicht unbeträchtlicher werden kann. Es können aber auch schon auf dem Felde Schäden entstehen, die bisher viel zu wenig beachtet worden sind; wenn diese Schäden auch nur selten den Charakter einer Epidemie annehmen, so haben sie doch dadurch eine gewisse Bedeutung, als die erkrankten Exemplare den Ausgangspunkt für Mieten- und Kellerinfektion bilden. Die Verfasser geben sodann Verhaltungsmaßregeln zur Bekämpfung des Pilzes in Mieten und auf dem Felde (da eigentliche Konidien des Pilzes nicht bekannt sind, so ist bei der Bekämpfung das Hauptaugenmerk auf das Mycel, die Sklerotien und Ascosporen zu richten), mit dem Hinweise darauf, daß bei einem stärkeren Auftreten im Felde ein Wiederanbau gefährdeter Pflanzen erst nach etwa 3 Jahren statthaft ist.

Briem [4]) beschreibt zwei Schoßrüben, deren Stengelentwickelung insoferne nicht normal ausgebildet war, als nämlich, von den Knotenpunkten ausgehend, keine Seitenzweige entstanden und ferner sich auch nicht die Aufgabe des Samenstengels erfüllt fand, indem sich am oberen Stengelteile kein Samenansatz gebildet hatte, sondern sich oben an den Stengeln, die ganz plötzlich das Wachstum in die Höhe unterbrochen hatten, ganz normale Blattrosetten entwickelten. Es waren hier Blätter in allen Größen bis zu den kleinsten jüngsten Herzblättern zu sehen, so daß die gebildete Blattrosette von einer normalen einjährigen Rübe nicht zu unterscheiden war. Verletzungen mechanischer Natur, sowie

1) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 42.
2) Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. XXVI. 1906. p. 542.
3) Arbeiten aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. 1906. p. 189.
4) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft Jahrg. XXXV. 1906. p. 23.

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Schädigungen durch tierischen Fraß oder Krankheiten waren ausgeschlossen. Die Messungen und Wägungen an den beiden seltenen Originalen ergaben folgende Zahlen:

	Rübe A.	Rübe B. mittlerer	rechter Stengel	linker
Länge des Stengels	24 cm	24 cm	31 cm	5 cm
Umfang des Stengels unten	19 „	9 „	7 „	10 „
Umfang des Stengels oben	14 „			
Gewicht des Stengels	350 g	141 g	95 g	40 g
Gewicht der Wurzel	1052 „		1020 „	

Briem spricht diese Erscheinung nur als Naturspiel an. Strohmer[1]) hat die beiden Schoßrüben einer chemischen Untersuchung zugeführt und kommt auf Grund der gefundenen Resultate und früheren Untersuchungen zu der Feststellung, daß die Saccharose der Rübenwurzel kein Umwandlungsprodukt von aus dem Blatte eingewanderten Monosen darstellt, sondern daß der Rohrzucker als solcher in die Wurzel transportiert wird und auch als solcher hier zur Ablagerung gelangt. Während Rübe A im ganzen 140,2 g Rohrzucker erzeugt hatte, hatte Rübe B trotz ihres geringeren Wurzel- und Stengelgewichtes in Summe 165,5 g Rohrzucker produziert. Da die beiden Rüben derselben Samensorte entstammten und unter gleichen Wachstumsbedingungen erwachsen waren, so können sie deshalb als ein geradezu klassisches Schulbeispiel für die wohl heute bereits allgemein angenommene Anschauung, daß unter sonst gleichen Bedingungen der Zuckergehalt der Rübenwurzel in allererster Richtung von einer für die Zuckerbildung günstigen Entwickelung ihres Blattapparates abhängig ist, gelten.

Deutsch[2]) sucht, trotzdem die Botaniker und Landwirte die ursprüngliche Rübe für eine einjährige Pflanze halten, das Gegenteil zu beweisen und die Rübe als zweijährige Pflanze zu dokumentieren, da ihm das Studium der Beta maritima die Ueberzeugung brachte, daß die wildwachsende Form ebenso wie die veredelte eine zweijährige Pflanze ist. Wenn die wildwachsende Form einjährig ist, dann ist dies nur den klimatischen Verhältnissen zuzuschreiben, bei günstigeren Verhältnissen wäre sie ebenfalls zweijährig; auch die veredelte Form wird einjährig, wenn sie durch Witterungsverhältnisse dazu gezwungen wird. Die Wildform hat deshalb mehr Neigung zum Aufschießen, weil sie eben nicht veredelt ist und es ihr an Widerstandsfähigkeit mangelt. Warum nicht alle Rüben, die demselben Samen entstammen und unter ganz gleichen Verhältnissen auf einem und demselben Felde wachsen, schossen, sondern nur einzelne davon zum Schossen neigen, erklärt Deutsch auch durch die geringe Widerstandsfähigkeit der aufgeschoßten Exemplare. Durch Produktion von kräftigen und widerstandsfähigen Rüben kann daher dem Schossen im ersten Jahre begegnet werden. Man solle daher nach der Ansicht von Deutsch trachten, besonders starke (schwere) Samenrüben zu züchten, da diese mehr Nährstoffe zu assimilieren im stande sind und infolgedessen die Fähigkeit besitzen, bessere Samen zu produzieren. Die Erscheinung, daß es Länder gibt, z. B. Rumänien, wo überhaupt noch kein Schossen der Rüben beobachtet worden ist, erklärt Deutsch durch die besondere

1) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXV. 1906. p. 25.
2) Sucrerie indigène et coloniale. T. LXVIII. 1906. p. 236.

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Eigenschaft des betreffenden Bodens, sich leichter zu erwärmen und gegen die niedrige Temperatur des Frühjahres weniger zugänglich zu sein. Die Erscheinung, daß dagegen die europäische Zuckerrübe in Aegypten nicht einmal im zweiten Jahre Samen hervorbringt, kann sich Deutsch nicht erklären und er glaubt nur, daß man durch mechanische und chemische Mittel die Rüben zur Samenbildung im zweiten Jahre bringen könnte. Schließlich betont er noch, daß das Schossen der Rüben im ersten Wachstumsjahre nur ein Zeichen eines Schwächezustandes des betreffenden Individuums ist. Lambert[1]) erklärt auf Grund seiner 30-jährigen Beobachtungen gegenüber Deutsch, daß gerade die kräftigsten Rübenpflanzen am ehesten zu Schoßrüben werden. Dieselbe Erfahrung haben auch Gärtner bei verschiedenen Gemüsepflanzen gemacht und schließlich konnten Züchter, welche seit langem prinzipiell schwerere Rüben einsetzen, trotzdem das Schossen im ersten Wachstumsjahre beobachten.

Das Auftreten der Kleeseide (Cuscuta europaea L.) auf Zuckerrüben hat Peglion[2]) in Voghiera (Provinz Ferrara) beobachtet. Trotzdem die Blätter der Zuckerrübe von den Fäden der Seide vollständig eingeschnürt waren, konnten keine so schweren Schädigungen in Bezug auf die Entwickelung der Rübenwurzel und der Höhe des Zuckergehaltes festgestellt werden, wie dies Stift[3]) in einem ähnlichen Falle im Jahre 1901 beobachtet hat. Immerhin ist aber Peglion für eine radikale Bekämpfung und empfiehlt, die befallenen Pflanzen dicht am Boden abzumähen und Blätter, Pflanzenstengel, Rübenköpfe, kurz alles, was als Stütze für die Gespinste des Parasiten dient, zu sammeln und zu verbrennen. Referent[4]) hat die Beobachtung gemacht, daß die Kleeseide im Jahre 1905 wieder auf demselben Felde aufgetreten ist, auf welchem sie im Jahre 1901 einen bedeutenden Schaden angerichtet hat. Auch bei dem letztjährigen Auftreten war das Umsichgreifen der Seide von deutlichem Einfluß auf die Entwickelung der Rübenwurzel in puncto Gewicht und Zuckergehalt gewesen. Aus den bisherigen Erfahrungen ergibt sich, daß die Seide auch bei der Zuckerrübe zu einem unangenehmen Parasiten werden kann, der sich nicht auf seinen Ursprungsort beschränkt, sondern auch örtlich auseinanderliegende Felder zu verseuchen im stande ist. Zur radikalen Bekämpfung der Seide ist es am sichersten, die befallenen Rüben sofort zu entfernen.

Von großem Interesse sind die Daten, welche der Landesverein ungarischer Zuckerindustrieller[5]) im Jahre 1905 über die Kosten der Abwehr der tierischen Rübenschädlinge gesammelt hat. Zu dieser Aufstellung lieferten 176 Produzenten Daten, nach welchen im genannten Jahre die Abwehrarbeiten auf 27 864 Katastraljoch 167 956,99 K. kosteten; für ein Joch (= 0,4316 ha) stellten sich daher die Kosten der Austilgung der Schädlinge im Durchschnitt auf 6,02 K., wobei zu beachten ist, daß in einigen Wirtschaften die Kosten sogar 30—35 K. betragen haben. (Sicherlich betrifft dies Wirtschaften, die unter dem Auftreten der Rüsselkäfer leiden. Der Ref.)

1) Ebenda p. 244.
2) Blätter für Zuckerrübenbau. Jahrg. XIII. 1906. p. 376.
3) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXX. 1901. p. 924.
4) Ebenda. Jahrg. XXXV. 1906. p. 40.
5) Wochenschr. d. Zentralvereins für Rübenzuckerindustrie in der österr.-ungar. Monarchie. Jahrg. XLIV. 1906. p. 331.

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

B. Kartoffel.

Nach Appel[1]) trat im Juli 1905 ziemlich plötzlich eine Kartoffelkrankheit auf, die ihrem ganzen Aeußeren nach zu der Gruppe der Kräuselkrankheiten gehört, von derselben sich aber dadurch prägnant unterscheidet, daß die Kartoffelblätter vom Rande her eingerollt oder zusammengefaltet sind und das ganze Laub rot verfärbt ist. Zur Unterscheidung wird der Name „Blattrollkrankheit" vorgeschlagen. Gegen Herbst sterben die befallenen Stöcke eher ab als die gesunden, die geernteten Kartoffeln erscheinen stärkeärmer als die normalen derselben Sorte und sind außerdem dadurch als krank zu erkennen, daß sie gelb umfärbte Gefäßbündel haben, die besonders in der Nähe des Nabels deutlich erkennbar sind. Die Ursache der Krankheit ist ein Pilz aus der Gattung Fusarium, der in kleine Wunden und Risse des unteren Stengelteiles eindringt und von da auch die Gefäße der ganzen Pflanze bis in die äußersten Spitzen durchwuchert. Während es leicht gelingt, aus Schnitten des Stengels an jeder beliebigen Stelle das Mycel des Pilzes durch Feuchtlegen hervorzulocken, gelang es kurz nach der Ernte nur in wenigen Fällen auch in der Kartoffel den Pilz in größeren Ausdehnungen nachzuweisen. Vielmehr werden die Gefäßbündel der Knollen augenscheinlich durch Stoffwechselprodukte des Pilzes auf weitere Strecken hin verfärbt. Immerhin dürfte es sich im Frühjahr zeigen, daß aus diesen Kartoffeln wieder kranke Stöcke hervorgehen. Die Krankheit dürfte Schacht im Jahre 1845 vor sich gehabt haben und suchte er den Erreger irrtümlich in den verfärbten Blättern. Die von Smith in Amerika beschriebene ähnliche Krankheit unterscheidet sich von der vorliegenden dadurch, daß sich ihr Erreger nur in den unteren Stengelteilen ausbreitet und nur diese zerstört. Auch scheint ihr Auftreten zu umfangreicheren Schädigungen zu führen als sie in Europa bis jetzt bekannt sind. Der Erreger der Blattrollkrankheit ist auch außerdem kulturell verschieden von dem in Amerika auftretenden Fusarium oxysporum.

Versuche von Schleh[2]) haben bestimmt dargetan, daß die Kräuselkrankheit durch Aussetzen von Saatkartoffeln aus mit dieser Krankheit behafteten Kartoffeläckern im nächsten Jahre weitere Verbreitung finden kann, wenn auch die Saatkartoffeln beim Auspflanzen einen durchaus gesunden Eindruck machen und keinerlei Krankheitserscheinungen zu beobachten waren. Es sollen daher unter keinen Umständen Saatkartoffeln von Feldern, auf denen die Krankheit aufgetreten ist, zur Aussaat im Frühjahr verwendet werden; solche Kartoffeln können aber als Eßkartoffeln verwendet werden, da sie weder im Aussehen, noch an Geschmack oder Haltbarkeit eingebüßt haben. Laubert[3]) gibt als Ursache der Kräuselkrankheit den Pilz Macrosporium solani (Alternaria solani) an. Zur Bekämpfung werden empfohlen: Vermeidung von Saatgut eines verseuchten Feldes, Verbrennen des Krautes, Bespritzen der oberirdischen Teile (da dadurch die Pflanze kräftiger und widerstandsfähiger gegen die Krankheit gemacht wird), Verabreichung von Kainit in die Kartoffelreihen zum Abtöten der im Boden vorhandenen Pilzsporen im Augenblick der Keimung.

Ueber die Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln, ihre Ursachen und Be-

---

1) Mitteil. aus der Kaiserl. Biolog. Anst. für Land- und Forstwirtschaft. 1. Jahresbericht. 1906. H. 2. p. 10.
2) Hannoversche land- und forstwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LIX. 1906. p. 1033.
3) Praktische Blätter für Pflanzenschutz. Jahrg. IV. 1906. p. 88.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kämpfung gibt Bretschneider[1]) eine kurze und populär gehaltene Beschreibung, die in folgendem gipfelt: Vermeidung des Anbaues von Kartoffelstücken, sondern Auslegen ganzer Knollen, Verwendung von Spätsorten und dickschaligen Sorten zum Anbau, Beizen der Saatkartoffeln mit Formaldehyd oder Kupferkalkbrühe, Entfernen und Verbrennen kranker Stöcke und Knollen, Vernichtung kranker Knollen bei der Ernte und möglichst trockene und kühle Einlagerung gesunder Kartoffeln im Winter als Schutz vor Fäulnis beim Lagern.

Nach dem Berichte von Hiltner[2]) scheint im Jahre 1906 die fortgesetzt nasse Witterung einen besonders schädigenden Einfluß auf die Kartoffeln ausgeübt zu haben, der sich in einem Auftreten der Schwarzbeinigkeit und zum Teil auch der Krautfäule (gegen diese Krankheit Bespritzung mit Kupferkalk oder Kupfersoda sehr zu empfehlen) äußerte. Ferner traten auch die Kräuselkrankheit und ähnliche Erscheinungen auf, die mutmaßlich mit der Beschaffenheit des Saatgutes in Zusammenhang standen.

Lück[3]) hat im Aetzkalk ein Mittel zur Bekämpfung der Phytophthora infestans gefunden. Kalk neben mittelstarker Stallmistgabe kurz vor dem Legen der Kartoffeln eingeeggt, äußerte weiter keinen Einfluß auf die Kartoffeln, während ein daneben liegender Schlag, der keinen Kalk erhielt und Kartoffeln derselben Sorte („Prof. Maerker“) und von derselben Miete trug, nur kranke Kartoffeln brachte, die in der Miete resp. im Keller total verdarben. Es wird angenommen, daß es chemische oder physikalische Einwirkungen des Kalkes gewesen sind, welche der Verbreitung des Pilzes Einhalt geboten oder denselben gar nicht zur Entwickelung kommen ließen. A. B.[4]) empfiehlt zur Verhinderung der Kartoffelfäule eine Lösung von 6—8 g Flußsäure auf 100 l Wasser (für Kartoffeln zu Samen bestimmt nur 4 g) mittels einer Gießkanne mit Brause zuerst auf den Boden, wo die Kartoffeln lagern sollen, und dann auf die Kartoffeln schichtweise, etwa bis zu der halben Höhe der Miete oder Lagerhöhe, aber schwächer zu gießen. Da durch das spätere Erwärmen der Kartoffeln eine Verdunstung des Wassers stattfindet, so wird demnach auch die Flußsäure im ganzen Haufen fein verteilt und, wenn die Menge der Säure richtig gewählt, so müßte daher die Fäule, wenn auch nicht gänzlich authören, so doch beträchtlich gehemmt werden.

Die Bezeichnung „Ringkrankheit“ der Kartoffeln ist nach Appel[5]) insofern zutreffend, als die derartig erkrankten Knollen, sowohl der Länge als auch der Breite nach durchschnitten, etwa $^1/_2$—1 cm unter der Schale einen mehr oder weniger vollständigen braungefärbten Ring erkennen lassen. Die Krankheit charakterisiert sich dadurch, daß ein Erkranken der Knolle zu einer Erkrankung der ganzen Pflanze führen kann, wobei drei verschiedene Formen auftreten können. Entweder läuft nach dem Legen der Kartoffeln ein Teil der Stauden nicht auf, wobei häufig ein besonders gesteigertes Wachstum unter der Erde zu bemerken ist, das sich durch übermäßige Wurzelbildung oder durch Entwickelung zahlreicher kleiner Knöllchen kundgibt, oder die Pflanzen entwickeln sich

1) Wiener Landwirtsch. Zeitung. Jahrg. LVI. 1906. p. 692.
2) Praktische Blätter für Pflanzenschutz. Jahrg. IV. 1906. p. 88.
3) Deutsche Landw. Presse. Jahrg. XXXIII. 1906. p. 293.
4) Oesterr. Brennereizeitung. Jahrg. IV. 1906. p. 299.
5) Kaiserlich Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, Flugblatt No. 36, siehe auch Deutsche Landw. Presse. Jahrg. XXXIII. 1906. p. 254.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur kümmerlich, bekommen ein glasiges Aussehen und gehen im Juni oder Juli ganz ein, oder endlich, es entwickeln sich die Stöcke normal, werden aber im Hochsommer durchscheinend bräunlich fleckig und welken ab, wobei die Blätter der kranken Triebe (was aber nicht immer der Fall zu sein braucht) schwärzliche, sich allmählich vergrößernde Flecken an den Nerven bekommen, einschrumpfen und abfallen. Während die Stöcke mit den beiden ersten Krankheitsformen meist kleine oder doch nur wenig reife Knollen liefern, tragen die letzterwähnten oft eine völlig normal erscheinende Ernte. Gerade diese Stöcke bilden aber eine besondere Gefahr, da sie mehr oder weniger kranke Kartoffeln liefern, die, zur Aussaat benutzt, die Krankheit auf das nächste Jahr übertragen und zu ihrer Verbreitung beitragen. Während des Herbstes und Winters kommt es nicht selten vor, daß die gebräunten Stellen nicht faulen, sondern vermorschen, was zu einem Hohlwerden der Kartoffel führt. Treten in solche Kartoffeln durch den Nabel Fäulnisbakterien ein, so wird zunächst das vermorschte Gewebe weichfaul und dann werden auch die äußeren Teile ergriffen, wodurch ein Faulwerden der Kartoffeln von innen nach außen eintritt. Die Ursachen der Krankheit sind verschiedene, sich verwandtschaftlich nahestehende Bakterienformen, deren Tätigkeit sich verschieden äußert, für den Krankheitsverlauf und die Bekämpfung ohne Bedeutung sind. Die in manchen Böden normalerweise vorhandenen Bakterien können wohl gesunden und unverletzten Kartoffeln nichts anhaben, treten aber durch Verletzung der Knollen, der unteren Stengelteile etc. in die Pflanzen ein. Kommt es noch zur Bildung völlig heranwachsender Triebe, so wachsen auch in diese die Bakterien mit hinein und übertragen so die Krankheit auf die nächste Generation. Daß die Krankheit unter Umständen eine weite Verbreitung finden kann, beweist das Jahr 1905, in welchem die Zahl des Ausfalles der Stöcke sich auf 60—70 Proz. belief, und es Felder gab, die wegen der Krankheit nicht die Arbeit des Aberntens lohnten. Zur Bekämpfung der Krankheit gibt es nur zwei Wege: 1) Vermeidung, das Saatgut in geschnittenem Zustande zu verwenden und 2) Ersatz des Saatgutes durch neues von gesunden Feldern.

Auf die in vorliegender Zeitschrift erschienene umfangreiche Abhandlung von Harrison[1]) „A bacterial rot of potatoe“ kann verwiesen werden.

v. Eckenbrecher[2]) hat bei über ganz Deutschland verteilten Anbauversuchen ebenfalls das häufige Auftreten verschiedener Kartoffelkrankheiten beobachtet, so Phytophthora, Bakterienringkrankheit, Schorf, violette Färbung des Kartoffelfleisches, Rostfleckigkeit (Buntwerden der Kartoffeln), Fusarium-Kräuselkrankheit (die fast alle Sorten eines Versuchsfeldes ergriff) und „Glasigkeit“, welch letztere möglicherweise mit der im Sommer 1905 in manchen Gegenden aufgetretenen „Blattrollkrankheit“ zusammenhängt, einer Krankheitsform, die bisher mit unter dem Begriff der Kräuselkrankheit vereinigt wurde, aber von ihr verschieden ist.

Nach Güssow[3]) war man wohl selten über die Ursache einer Krankheitserscheinung mehr im unklaren, als bei dem sogenannten Grinde der Kartoffeln. Kühn hat als erster das Mycel der Rhizo-

---

1) Zeitschr. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XVII. 1906. p. 34. 120. 166. u. 384.
2) Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXIX. 1906. Ergänzungsheft. p. 3.
3) Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVI. 1906. p. 135.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ctonia für die Erscheinungen des Kartoffelgrindes verantwortlich gemacht und einen neuen spezifischen Namen „Solani" gegeben, welcher aber als überflüssig erschien, da damals die Entwickelung des Pilzes noch nicht völlig bekannt war. Ende 1905 hat Güssow Kartoffelknollen untersucht, welche mit den Hyphen des Pilzes Rhizoctonia überzogen waren, und nach der Entfernung des Mycels fand sich der gewöhnliche Sklerotienbesatz auf der Oberfläche der Knollen. Der Pilz bedeckte ganze Furchen im Felde, welches als Vorfrucht Luzerne getragen hatte. Diese Fruchtfolge stellt die Berechtigung des Kühnschen Namens „Solani" in Frage, und man hat es ohne Zweifel mit der von Tulasne beschriebenen Rhizoctonia violacea zu tun. Mit dieser Krankheit hat sich auch Rolfs eingehend beschäftigt, und ist nach seinen Untersuchungen dem genannten Pilz zweifellos der größte Teil des Kartoffelgrindes zuzuschreiben. Rolfs beobachtete die Fruktifikation des Pilzes an der Basis des noch grünen Kartoffelstammes, wo derselbe ein unscheinbares, grau-weißes Hymenium bildet. Aus dieser Erscheinung und der Beobachtung fertiler, hyaliner Sporen von ovaler, nach der Anheftungsstelle hin schwach zugespitzter Form, die zu zwei bis vier an kurzen, hyalinen Sterigmen auf keulenförmigen Basidien stehen, spricht Rolfs den Pilz als Corticium an. Reinkulturen des Pilzes infizierten ohne Ausnahme Kartoffeln, welche dann den charakteristischen Grind aufwiesen und von dem Mycel überzogen waren, während gesunde, nicht infizierte Knollen unter gleichen Kulturbedingungen gesund blieben. Da die an der Oberfläche der Kartoffeln haftenden Sklerotien die wichtigsten Faktoren zur Verbreitung der Krankheit sind, so ist vorsichtige Auswahl der Saatkartoffeln geboten, und ferner empfiehlt es sich, befallene Kartoffeln nur nach Eintauchen in eine schwache Sublimatlösung (etwa 30 g Sublimat in 45 l Wasser) zu benützen. Aus den Angaben Rolfs' zieht Güssow den Schluß: Rhizoctonia Solani Kühn ist als zu Rhizoctonia violacea Tul. gehörig zu streichen, und der letztere Name ist aufzugeben, da er nur das Mycel des Pilzes Corticium vagum B. et C. var. Solani Burt. bezeichnet.

Appel[1]) hat gemeinschaftlich mit Bruck experimentell untersucht, wie weit Stysanus Stemonites die Kartoffeln selbständig anzugreifen vermöge, da in dem trockenen Jahre 1904 an Kartoffeln braune, ins Innere eindringende Flecken wahrgenommen worden waren, aus denen regelmäßig Stysanus hervorgewachsen war. Der Erfolg der verschiedensten Infektionen bestand darin, daß Stysanus tatsächlich die Kartoffeln anzugreifen vermag, daß aber sein Wachstum sehr beschränkt ist. Wenn er deshalb auch keine größeren Zerstörungen hervorrufen kann, so ist er doch nicht ganz ohne Bedeutung, da die von ihm geschaffenen Wunden anderen, energischer wirkenden Zerstörern erhöhte Angriffsmöglichkeiten bieten.

Die Fruktifikationsorgane des von Frank mit dem Namen Phellomyces sclerotiophorus belegten Pilzes und damit die systematische Stellung desselben waren bisher nicht bekannt, bis es Appel und Laubert[2]) gelungen ist, den Pilz zur Fruktifikation zu bringen. Unter gewissen Umständen wachsen auf den kleinen, punktförmigen Stromatis des Phellomyces sehr charakteristische, aufrechte, zierliche Sporenträger mit wirtelig angeordneten, keulenförmigen, mehrzelligen Sporen

1) Mitteil. aus d. Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtsch. Jahrg. I. 1906. Heft 2. p. 11.

2) Ebenda.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hervor. Diese Fruchtform erwies sich als identisch mit einer von Harz 1871 entdeckten und unter dem Namen Spondylocladium atrovirens beschriebenen Dematiacee. Sorauer scheint ein einziges Mal die Spondylocladium-Fruktifikation gesehen zu haben, ohne jedoch den Pilz richtig zu identifizieren und ohne ihm als Schädling irgend eine Bedeutung zuzumessen. Impfversuche, die an Kartoffeln mit dem Spondylocladium ausgeführt wurden, sowie eine Nachuntersuchung Frankschen Originalmateriales führten zu dem Ergebnis, daß der Pilz zwar in seltenen Fällen nicht nur auf der Schale, sondern auch noch $^1/_4$ cm unter derselben im Kartoffelgewebe aufzufinden ist, daß in solchen Fällen die Kartoffeln aber schon anderweitig erkrankt waren, und daß der Pilz bei uns jedenfalls nicht zu den wirtschaftlich wichtigeren Kartoffelschädlingen gerechnet werden kann.

Eingehende Versuche über die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Kartoffelsorten gegen Fäulnisbakterien liegen von Henneberg[1]) vor, von der Tatsache ausgehend, daß die Fäulnisbakterien unter bestimmten Bedingungen das Verderben der Kartoffelknollen hervorrufen können und daß eine Kartoffel, die sich gegen Fäulnis in den Mieten widerstandsfähig erweist, jedenfalls für die Praxis von hohem Wert ist. Da nun die Haltbarkeit der Kartoffeln zumeist erst beim Oeffnen der Mieten erkannt wird, so wäre eine Methode, welche die Haltbarkeit frühzeitig angeben könnte, von großem Wert. Obwohl sich die Frage vielleicht auch im chemischen Sinne lösen ließe, so erscheint aber eine biologische Methode von vornherein viel einfacher. Die von Henneberg in dieser Richtung hin angestellten Versuche (Infizierung der Kartoffeln mit Fäulnisbakterien und Einbringen zur Beobachtung in große, mit eingeschliffenen Glasstopfen luftdicht verschließbare Glascylinder) sind noch nicht abgeschlossen, haben aber immerhin schon gezeigt, daß in einigen Fällen die Laboratoriumsergebnisse in Bezug auf die Neigung zur Bakterienfäulnis mit den Befunden im Lagerkeller sehr gut übereinstimmen. Henneberg kommt nach seinen Untersuchungen wesentlich zu folgenden Schlußfolgerungen: 1) Ueber die Arten der eingeimpften Fäulnisbakterien sind die Untersuchungen noch nicht abgeschlossen, doch handelt es sich jedenfalls um eine Granulobacter-Art und daneben um eine kleinzellige Art. 2) Die einzelnen Kartoffeln derselben Sorte und die einzelnen Sorten untereinander verhalten sich den Bakterien gegenüber manchmal ganz verschieden, und scheint mit dem Verhalten der Zuckergehalt im Zusammenhange zu stehen, denn je mehr Zucker in der Kartoffel ist, desto weniger widerstandsfähig ist dieselbe. 3) Bei den Laboratoriumsversuchen konnte ein „Angestecktwerden“ der gesunden durch die faulenden Kartoffeln vielfach festgestellt werden, doch dürfte die erste Ursache der Erkrankung wohl der größere Wassergehalt in der eingeschlossenen Luft oder mehr noch die direkte Benetzung mit dem fauligen Saft sein. Die Bacillen wandern dann von den faulenden in die abgeschwächten Knollen ein, und die Fäulnis geht in diesem Falle von der Schale aus, was in den Mieten jedenfalls ebenso sein dürfte. Henneberg ist schließlich der Ansicht, daß die biologische Untersuchungsart der verschiedenen Sorten sehr aussichtsreich zu sein scheint. Der Einfluß der Düngung, der Witterung, des Lagerns, des Alterns, der Größe etc. auf die Widerstandsfähigkeit gegen Fäulnisbakterien muß durch weitere Untersuchungen festgestellt werden. Vielleicht bedeutet

1) Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jahrg. XXIX. 1906. p. 52.

Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

die Widerstandsfähigkeit gegen Bakterien überhaupt „Haltbarkeit", oder aus ersterer lassen sich vielleicht auf die allgemeine Haltbarkeit brauchbare Schlüsse ziehen. Nach weiter fortgesetzten Versuchen Hennebergs[1]) im Frühjahre 1906 besaßen die in Versuchsmieten eingemieteten Kartoffeln teilweise einen beträchtlich höheren Zuckergehalt als bei der Einmietung, die in Lagerkellern zum Teil einen geringeren. Merkwürdigerweise sind aber die Ergebnisse der letzten Impfversuche ganz andere, als man danach erwarten sollte. Die Kartoffeln faulen viel schneller als früher, woraus schon zu ersehen ist, daß die geringe Widerstandsfähigkeit gegen Fäulnisbacillen nicht nur vom Zuckergehalt abhängig ist. Vielleicht sind sämtliche Sorten trotz des Unterschiedes im Zuckergehalt zur Zeit des Aufkeimens sehr wenig widerstandsfähig, und dies ist ein sehr wichtiger Befund. Die Widerstandsfähigkeit der Sorten ist aber veränderlich, und für die Praxis wäre es wohl von großem Werte, diese möglichst lange zu erhalten oder zu vergrößern. Jedenfalls müssen noch im kleinen und in der Praxis umfangreiche biologische und chemische Analysen lange Zeit hindurch angestellt werden, um die sicherlich sehr verwickelten Vorgänge auch nur einigermaßen zu erkennen. Richter[2]) bemerkt zu den Untersuchungen Hennebergs betreffs der Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Sorten, daß dieselben nicht ganz der Wirklichkeit entsprechen. Während z. B. Richters „Imperator" bei den Versuchen Hennebergs schlecht abschnitt, gehört sie, wenn sie entsprechend, d. h. schonend behandelt wird, trotz ihrer 34 Jahre zu den widerstandsfähigsten Sorten. Die vorsichtige Behandlung der Kartoffelknollen ist ein Faktor, der meist nicht genügend beachtet, sondern übersehen wird. Es ist daher dringend zu empfehlen, die Kartoffelknollen feiner und mehr empfindlicher Speisesorten vor Verletzung, Druck, Werfen und dem Schläger der Erntemaschine zu bewahren und solche Sorten, die bisher zufriedenstellende Ergebnisse lieferten, nicht vorschnell über Bord zu werfen.

Wittmack[3]) unterzieht die Arbeit von L. R. Jones über die Widerstandsfähigkeit der Kartoffeln gegen Krankheiten (erschienen U. S. Departement of Agriculture. Bureau of Plan Industrie. Bulletin No. 87. Washington 1905) einer kritischen Besprechung unter Hervorhebung der von Jones in Europa studierten Krankheiten der Kartoffel, wobei auf die Mitteilung verwiesen werden muß. Während das Bespritzen mit Bordeauxbrühe gegen Phytophthora infestans in England, besonders aber in Schottland und Irland, ferner in den Niederlanden und Teilen von Frankreich viel angewendet wird, steht Deutschland, wie Jones leider mit Recht hervorhebt, sehr zurück. Wenn Jones nun meint, das käme daher, weil bei einigen durch Männer der Wissenschaft ausgeführten Versuchen die Pflanzen beschädigt worden seien, so darf man nach Wittmack den Umstand des Nichtspritzens wohl eher einerseits darin suchen, daß die Krankheit in manchen Jahren gar nicht auftritt, so in trockenen Sommern, ja selbst stellenweise in nassen, und andererseits, daß die Kartoffelfelder in Deutschland so groß sind, daß dann immer schon teure, fahrbare Spritzen nötig wären. In einer Schlußübersicht faßt Jones die Resultate folgendermaßen zusammen: 1) Die Widerstandsfähigkeit gegen die durch Phytophthora infestans er-

1) Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXIX. 1906. p. 142.
2) Deutsche Landw. Presse. Jahrg. XXXIII. 1906. p. 300.
3) Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXIX. 1906. p. 141.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zeugte Kartoffelkrankheit ist relativ, da keine einzige Sorte absolut sicher gegen Blatt- und Knollenkrankheit ist. 2) Die Widerstandsfähigkeit scheint in Beziehung zu stehen zum kräftigen Wuchs und nimmt mit dem Alter der Sorte ab. 3) Sie kann wiedererlangt werden durch Zucht aus Samen, besonders nach Bastardierung, doch sind nicht alle Sämlinge widerstandsfähiger. 4) Kreuzung mit anderen Solanum-Arten scheint etwas aussichtsvoll, doch sind bis jetzt keine praktischen Resultate erzielt. 5) Möglicherweise kann die Widerstandskraft älterer Sorten durch Auslese vermehrt werden, doch ist dies noch nicht bewiesen. 6) Frühe Sorten können der Krankheit entgehen, weil sie absterben bevor die Krankheit epidemisch wird, aber unter gleichen Verhältnissen, d. h. spät gebaut, sind sie weniger widerstandsfähig als späte. 7) Die Herkunft der Saatknollen ist von Wichtigkeit. Knollen aus nördlichen Gegenden haben in Europa widerstandsfähigere Pflanzen ergeben. Auch sind wahrscheinlich Saatknollen von nicht zu gedüngtem Boden besser zur Saat. Möglicherweise sind Knollen, die von der Reihe herausgenommen werden, besser zur Saat (was Wittmack bezweifelt). 8) Starke Düngung, besonders mit Stickstoff, vermindert die Widerstandsfähigkeit gegen Blatt- und Knollenkrankheiten. 9) Stärkereiche Sorten sind widerstandsfähiger gegen Knollenfäule als proteinreiche. 10) Rote Sorten mit dicker Schale scheinen im ganzen widerstandsfähiger als weiße mit dünner Schale (doch gibt es nach Wittmack auch Ausnahmen). 11) Harte, steife, an der Basis ziemlich holzige Stengel und schmale, grobe, dunkelgrüne Blätter zeigen widerstandsfähigere Pflanzen an. Wie Jones weiter mitteilt, so hat Stuart in Amerika die ausgedehntesten Versuche mit Kartoffeln angestellt; leider ist es aber nach Wittmack nicht möglich, die amerikanischen Sorten in Deutschland versuchsweise zu bauen, da die Einfuhr amerikanischer Kartoffeln verboten ist, und auch für wissenschaftliche Zwecke keine Ausnahme gemacht wird.

Bei der Auslese der Kartoffeln wird nach der Ansicht von Arnim[1]) vielfach zu wenig Wert auf die Gesundheit der Kartoffeln und ihre Widerstandsfähigkeit gegen Krankheiten gelegt. Die eingehende Behandlung der Züchtung auf Immunität (Untersuchung der Stauden und Knollen) ist auf dem gewöhnlichen rein empirischen Weg der Züchtung nicht möglich, sondern nur durchführbar, wenn tunlichst alle Hilfskräfte der Wissenschaft in den Dienst der Sache gestellt werden. Die Ursachen und die Entwickelung der Kartoffelkrankheiten sind, trotz aller Fortschritte der Wissenschaft, zum großen Teil, und zwar vor allem in den Beziehungen, die für die Praxis wichtig sind, noch nicht erschöpfend erforscht; bei nahezu allen Krankheiten stehen die Laboratoriumsversuche über die Uebertragbarkeit (Vererblichkeit) der Infektion mit den Erfahrungen der Praxis in teilweisem Widerspruch. Arnim hat z. B. festgestellt, daß bei sorgfältiger Behandlung im Winterlager an Schwarzbeinigkeit und Oberflächenschorf erkrankten Kartoffeln die Infektionsstoffe, die Erreger der Krankheit, zu Grunde gehen können und somit die Verwendung von Pflanzkartoffeln, die durch die vorhandenen Pockennarben noch an die frühere Infizierung erinnern, ganz harmlos ist. Ob nicht etwa gar solche Kartoffeln eine auf die folgende vegetative Generation übertragbare relative Immunität erwerben, ist eine Frage, die noch nicht aufgeworfen, geschweige denn wissenschaftlich bearbeitet ist. Bezüglich des Abbaues der Kartoffeln bemerkt Arnim, daß die fortge-

1) Illustr. Landw. Ztg. Jahrg. XXVI. 1906. p. 219.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

setzte Selektionstätigkeit vorhandener oder die Heranzüchtung immer neuer guter Sorten seitens sachkundiger Züchter eine Notwendigkeit ist, um dieser Erscheinung entgegenzutreten.

Edler[1]) äußert sich ebenfalls über das Altern der Kartoffeln, unter Hervorhebung der Anschauung, daß diese Erscheinung an sich mit einer Krankheit nichts zu tun habe und daß, wenn das Altern einer Kartoffel Krankheiten mit sich bringe, dies nur so erklärlich sei, daß man die Ursache für die Wirkung hält; die Krankheit überträgt sich durch die Knolle von Jahr zu Jahr und findet so eine immer stärkere Verbreitung. Zweifellos hat diese Ansicht ihre Berechtigung, wenn für ihre Richtigkeit ein strikter Beweis auch ebensowenig zu führen ist, wie für die Ansicht, daß das Auftreten einer Krankheit eine Folge der durch das Altern der Kartoffel geschwächten Widerstandskraft ist. Verschiedene Beobachtungen aber, die Edler über die Abhängigkeit der Stärke der Beschädigung der Kulturpflanzen durch Pilze oder tierische Feinde von der Wachstumsfreudigkeit im allgemeinen hat machen können, bestärken ihn in der Ansicht, daß sehr wohl eine starke Erkrankung der Kartoffeln eine Folge des Alterns sein kann. Daß hie und da die fehlerhafte Kultur das Zurückgehen der Kartoffelsorten verursachen kann, ist zweifellos, diese Kultur aber allein für das Absterben zahlreicher Kartoffelsorten verantwortlich zu machen, ist nicht angängig, da auch auf dem eigentlichen Kartoffelboden und dort, wo die Auswahl der Pflanzknollen sorgsam und zweckmäßig getroffen wird, man die Beobachtung gemacht hat, daß zuerst gesunde und ertragfähige Sorten nach und nach zurückgehen.

Die violette (neue) Spielart der Sumpfkartoffel (Solanum Commersoni Dunal.) ist nach der Mitteilung von Hailer[2]) gegenüber Kartoffelkrankheiten immun, da Delacroix Solanum violet fünfmal unter den günstigsten Bedingungen mit Phytophthora geimpft hat, ohne die Krankheit übertragen zu können, während gewöhnliche Kartoffeln ringsum (ohne Impfung) von ihr befallen worden sind. Nach den Zuchtversuchen von Labigerie ist diese Spielart eine gegen Krankheiten widerstandsfähige, besonders für feuchte Böden nunmehr konstante Sorte, welche an Schmackhaftigkeit den gewöhnlichen Kartoffelsorten gleichkommt, an Ertrag ihnen überlegen ist.

Bauernfeind[3]) hat in einem Kartoffelfeld einen 6—8 m großen, kreisförmigen Fleck beobachtet, innerhalb dessen die Kartoffelkräuter abstarben. An dieser Stelle hatte vor ca. 10 Tagen der Blitz eingeschlagen. Schwarzbeinigkeit und Rhizoctonia-Fäule kamen nicht in Betracht.

Da über die Möglichkeit, kranke Kartoffeln zu verfüttern, bis jetzt keine genaueren Versuche vorliegen, wohl aber in der Literatur vielfach behauptet wird, daß sie nur in gedämpftem Zustande unschädlich seien, so hat nach Appel[4]) die Kaiserlich Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft Versuche begonnen, bei denen, soweit es irgend möglich ist, die einzelnen Krankheitserreger der Kartoffel gesondert herangezogen werden. Beendet sind bis jetzt die Versuche, die mit Reinkulturen des Knollenfäule erregenden Bacillus phytophthorus in Kartoffelsaft

---

1) Fühlings Landw. Ztg. Jahrg. LV. 1906. p. 120.

2) Mitteil. d. Deutschen Landw.-Gesellsch. Jahrg. XXI. 1906. Beilage No. 6 zu Stück 14. p. 41.

3) Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. Jahrg. IV. 1906. p. 107.

4) Mitteil. aus d. Kais. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtsch. 1. Jahresbericht. 1906. Heft 2. p. 27.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

angestellt wurden. Sowohl eine einmalige Gabe einer solchen Kultur in der Menge von 1 l, als auch die 14 Tage fortgesetzte Gabe von 300 ccm auf jedes Futter hatten keinen wesentlichen Einfluß auf das Wohlbefinden der Tiere. Ab und zu kam es zwar vor, daß der Kot etwas dünner abging, doch waren dies keine dauernden Erscheinungen, ebensowenig wurde dadurch die Gewichtszunahme der Tiere beeinträchtigt. Bei der Schlachtung konnten ebenfalls keine innerlichen Veränderungen beobachtet werden. In Vorbereitung befinden sich Versuche mit Kartoffeln, die mit Bacillus phytophthorus zum Faulen gebracht sind und solche, die schon auf dem Felde stark von Phytophthora infestans befallen worden sind.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut der Universität Göttingen.

Ueber die Stickstoffernährung der Hefe[1]).

Von **Hans Pringsheim.**

In vorliegender ausführlicher Arbeit über die Physiologie der Hefe wird der Versuch gemacht, zwei Fragen zu beantworten, erstens welche stickstoffhaltigen Körper können überhaupt zur Ernährung der Hefe dienen, zweitens welchen Einfluß hat die Stickstoffernährung auf deren Lebenstätigkeit? Die Lebenstätigkeit der Hefe nun äußert sich in ihrem Vermehrungsgrad, ihrer Gärwirkung und dem Stickstoffumsatz während der Gärung. Weiterhin wird durch die Stickstoffernährung auch die Bildung von Nebenprodukten beeinflußt. In der Arbeit werden im Teil I die für die Stickstoffernährung geeigneten, im besonderen die zur Aufzucht einer gärfähigen Hefe verwendbaren Substanzen behandelt. Teil II betrifft die Einflüsse der Stickstoffernährung auf die Gärwirkung, den Vermehrungsgrad und den Stickstoffumsatz und Teil III die Einflüsse auf die Bildung von Nebenprodukten.

Teil I.

Die Stickstoffnahrung, welche die Hefe in der Natur und in Gärbetrieben findet, ist ein schwer entwirrbares Gemisch organischer Körper; als einheitliche Substanzen, die zur Heranzucht einer gärfähigen Hefe geeignet waren, wurden bis jetzt nur das Ammoniak in Form von Salzen und das Asparagin erkannt. Um weitere Stickstoffquellen herauszufinden, mußte man sich an die chemische Konstitution halten und organische Verbindungen untersuchen, denen verschiedene stickstoffhaltige Gruppen zukommen. Dabei stellte sich heraus, daß nur Substanzen, welche die NH—CH—CO-Gruppe enthalten, zur Heranzucht einer gärfähigen Hefe geeignet sind. Mit anders konstituierten Substanzen gelang es, Hefe heranzuzüchten, die auch in Gegenwart von Zucker nicht gärt. Die Bedeutung der genannten Gruppe und die experimentellen Ergebnisse wurden schon

---

1) Biochemische Zeitschrift. Bd. III. 1907. p. 121—286.

Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

in einem Referat besprochen (dieses Centralbl. Bd. XVIII. 1907), welches die in den Berichten d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXIX. p. 4048 gegebenen Resultate zusammenfaßt.

Teil II

wird durch eine ausführliche Würdigung der Angaben in der Literatur eingeleitet. Es wurde besonders der Versuch gemacht, die Ergebnisse früherer Forscher unter gesonderten Gesichtspunkten zu betrachten und zuerst auf die allgemeinen Grundzüge der Stickstoffbewegung während der Gärung, dann auf den Einfluß der Zuckerkonzentration, auf die Stickstoffentnahme aus gärenden Flüssigkeiten, das Verhalten verschiedener Hefen in Bezug auf die Stickstoffausnutzung, den Einfluß der Lüftung auf den Stickstoffgehalt der gebildeten Hefe, den Einfluß der Temperatur auf den Verbrauch des Stickstoffs durch die Hefe, den Einfluß kombinierter Stickstoffquellen auf die Gärwirkung, den Stickstoffumsatz und das Verhalten der Eiweißstoffe während der alkoholischen Gärung eingegangen.

Die Zusammenfassung der Ergebnisse aus der Literatur ergab folgendes:

Die Hefe enthält Stickstoff (Kunkel). Die Zuckerspaltung ist von einem Verlust des Stickstoffes der Hefe begleitet (Thénard), wobei die Hefetrockensubstanz stickstoffärmer wird (Mitscherlich). Nach Liebig ist die Zuckerspaltung eine molekulare Bewegung, ausgelöst durch eine spontane Zersetzung der eiweißartigen Substanz, während Nägeli diese nur für die Folge der stattfindenden Gärung hält. Auch Pasteur hielt Eiweißumsetzung für die notwendige Begleiterscheinung der Gärung. Er beobachtete auch den Austritt des Stickstoffes aus der Hefe bei der bloßen Aufschwemmung mit Wasser.

Die Vermehrung der Hefe in gärender Maische ist bei Beginn der Hauptgärung beendet (Hayduck). Der Gehalt der Maische an löslichen stickstoffhaltigen Substanzen nimmt während der Gärung ab, Hefewachstum und Gärwirkung der Hefe stehen aber in durchaus keinem Verhältnis zu einander (Delbrück). Die Hefe nimmt aus Würzen immer mehr Amidstickstoff als Proteinstickstoff auf (Lintner). In wenig Stickstoff enthaltender Lösung entstehen Hefen von minimalem Stickstoffgehalt, deren Mengen dem Stickstoffgehalt der Lösung proportional sind. Bei höherem Stickstoffgehalt der Lösungen bleibt die Hefemenge konstant, während ihr Stickstoffgehalt wächst. Der in einer Lösung enthaltene Stickstoffgehalt wird nur bis zu einer gewissen Konzentration ganz von der Hefe ausgenutzt. Die Stickstoffausscheidung durch die Hefe nimmt mit steigendem Stickstoffgehalt der Nährlösung, mit der Dauer der Gärung und der Erhöhung der Gärtemperatur zu (Hayduck). Mit steigendem Stickstoffgehalt der Hefe findet eine Zunahme der Gärkraft statt (Hayduck).

Bei Steigerung der Zuckerkonzentration von 10 auf 20 Proz. findet gesteigerte Ausnutzung des Stickstoffs durch die Hefe, verbunden mit größerer Gärwirkung statt. (Bewiesen nur für das Ammoniak von Thomas, für das Asparagin von Stern.) Die Oberhefe verbraucht in einer Lösung, die Ammoniak- und Asparaginstickstoff enthält, unter sonst gleichen Bedingungen weniger des ersteren als die Unterhefe (Petit). Auf derselben Würze geben verschiedene Heferassen große Schwankungen in der Hefeernte und deren Stickstoffgehalt (Boulanger). Die Lüftung begünstigt die Stickstoffaufnahme durch die Hefe (Boulanger, Hyde).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei optimaler Temperatur wird bei gleichzeitiger Anwesenheit der Ammoniakstickstoff mehr als der organisch gebundene, bei höherer Temperatur der organisch gebundene mehr als der Ammoniakstickstoff ausgenutzt (Laborde). Die Hefeausbeute fällt vom Pepton als Stickstoffquelle zum Asparagin (Kusserow) und zum Ammonsulfat (Bokorny). Peptonzusatz beschleunigt den Gärverlauf eines Mostes außerordentlich (Behrens). Die Hefe verliert in sehr peptonreicher Lösung in Gegenwart nur geringer Zuckerkonzentration ihren Charakter als Gärungsorganismus, während ihre vegetative Lebenskraft sehr gesteigert wird (Iwanowski). Mit Hefewasser als Stickstoffquellen entfalten bei einer Konzentration von etwa 0,008 Proz. Stickstoff verschiedene Hefen eine größere Gärwirkung als mit Pepton und Asparagin (Hess). Logos hat größere Gär- und Vermehrungsenergie als Hefe Saaz und Frohberg (Hess).

Bei der Vergärung reiner Zuckerlösungen macht sich in den ersten Tagen, ehe die Erschöpfung der Hefe eintritt, keine Eiweißzerspaltung bemerkbar. Die Gärung ist also nicht an einen Eiweißzerfall der Hefe gebunden. Während der Gärung bildet sich eine flüchtige Substanz, die den Eiweißzerfall hemmt (Iwanoff).

Als besonders wichtig tritt die Beobachtung des Stickstoffaustrittes aus der Hefe während der Gärung hervor. Dieser Austritt muß in allen Untersuchungen berücksichtigt werden, die sich mit der Frage nach dem Verbrauch einer Stickstoffquelle durch die Hefe befassen.

In einigen Versuchen wurde zuerst die Gärwirkung verschiedener Hefen bei verschiedener Stickstoffquelle und Stickstoffkonzentration untersucht. Gewählt wurden das Pepton als Repräsentant der höheren, das Leucin als Repräsentant der niederen Eiweißzerfallsprodukte, dazu Asparagin und schwefelsaures Ammoniak als mineralische Stickstoffquelle. Pepton und Leucin wurden mit Logos- und Frohberg-Hefe, Asparagin und schwefelsaures Ammoniak mit Logos-Wein und Frohberg-Hefe bei 15-proz. Zuckerlösung als Stickstoffnährmedien benutzt. Die durch tägliches Abwägen der Gärflaschen gewonnenen Resultate wurden auf ein L. Nährlösung umgerechnet, in Tabellen eingetragen und die Resultate durch Einzeichnen in Gärkurven anschaulich gemacht. Die Gesetzmäßigkeit der gewonnenen Resultate wird durch die Art der Hefe unbeeinflußt gelassen.

Beim Pepton zeigte sich ein regelmäßiger Abfall in der Schnelligkeit des Gärverlaufs mit abnehmender Stickstoffkonzentration. Bei den anderen Stickstoffquellen kehrt sich die Wirkung um. Je höher die Stickstoffkonzentration, desto langsamer der Gärverlauf von einem Maximum der Gärwirkung der gebildeten Hefe an bei einer Stickstoffgabe von 0,004—0,008 Proz., die für schnellen Gärverlauf optimal ist. Dieses ist, wie sich später herausstellte, auch die Konzentration, welche von der Hefe ganz ausgenutzt wird. Unterhalb dieser muß infolge Mangels an Stickstoff naturgemäß wieder eine Verzögerung in der Gärwirkung eintreten. Die absolute Intensität der Gärung wird bei den drei genannten Stickstoffquellen von der Bindung des Stickstoffes ziemlich unabhängig, jedenfalls viel unabhängiger als von der Art der Hefe. In allen Fällen vergor Logoshefe schneller als Weinhefe und diese als Frohberg-Hefe. Interessant ist, daß sich noch mit 0,0005 Proz. Stickstoff eine Gärung erreichen läßt.

Die Kombination verschiedener Stickstoffquellen ist

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im Vergleich zu einer auch bei gleichbleibender Stickstoffkonzentration weit günstiger auf die Gärwirkung der Hefe.

Leucin wirkt bei steigender Konzentration hemmend auf die Gärwirkung von Acetondauerhefe.

Bei der Bestimmung der auf denselben Nährlösungen gebildeten Hefezahl zeigte sich, daß sich mit steigender Peptonkonzentration die Zahl der geernteten Hefezellen steigert. Bei Leucin, Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak fällt maximale Zahl der Hefeernte nicht mit höchster Stickstoffkonzentration zusammen. Bei allen drei Stickstoffquellen lag die günstigste Konzentration für Aufzucht der größten Hefezahl bei 0,0321 Proz. Stickstoff. Da das Maximum für die Gärwirkung nahe 0,008 Proz., also dem vierten Teile lag, fällt Optimum der Gärwirkung und des Wachstums nicht zusammen.

Der Einfluß verschiedener Stickstoffquellen und Stickstoffkonzentrationen auf die Stickstoffentnahme aus der Lösung durch die Hefe konnte nur mit Ammoniak als Stickstoffquelle genau ermittelt werden, nachdem durch besondere Versuche nochmals nachgewiesen war, daß der Stickstoffgehalt der Nährlösung den Stickstoffgehalt der Hefeernte ziemlich unbeeinflußt läßt. Einerseits bildet die Hefe kein Ammoniak, andererseits sind wir durch die Destillation mit gebrannter Magnesia in den Stand gesetzt, den Ammoniakstickstoff auch in Gegenwart von zersetzlichen organischen Stickstoffverbindungen mit Genauigkeit schnell zu bestimmen, während uns bei anderen Stickstoffquellen nicht nur eine einfache Bestimmungsmethode für die stickstoffhaltigen Substanzen mangelt, sondern auch keine Sicherheit vorhanden ist, daß sie nicht als Hefeausscheidungsprodukte in die Lösung kommen. Kennen wir nun den ursprünglichen Ammoniakgehalt der Nährlösung vor der Gärung, bestimmen wir den Ammoniakgehalt und den Stickstoffgehalt der Hefe nach der Gärung, so ermitteln wir gleichzeitig auch den Austritt von Stickstoff aus der Hefe während der Gärung, da dieser gleich dem Ammoniakverbrauch vermindert um den Hefestickstoff ist.

Es wurden hier zwei Versuchsreihen angestellt. Einmal wurde der Stickstoffumsatz, wie wir den ganzen Vorgang nennen wollen, bei sich aus minimaler Einsaat entwickelnder Hefe, ein anderes Mal bei großer Einsaat, die Wachstum ausschloß und die somit nur die gärende und nicht die vegetative Lebensäußerung der Hefe betraf, ermittelt. Im ersten Falle war das Resultat, daß sowohl nach völliger Vergärung der 15-proz. Zuckerlösung durch Logos- und Weinhefe wie nach 100-tägiger Gärung durch Frohberg-Hefe Stickstoffverbrauch durch die Hefe wie Stickstoffaustritt aus der Hefe mit steigender Stickstoffkonzentration der Nährlösung regelmäßig zunahm. Es zeigte sich weiter, daß der Stickstoffverbrauch durch die Hefe, deren Stickstoffgehalt nach der Gärung stark übertroffen, ja, daß er fünfmal so groß werden kann. So geht aus diesen Versuchen klar hervor, wie wenig Wert die früheren Angaben über den Stickstoffverbrauch durch die Hefe haben, die aus der alleinigen Bestimmung des Stickstoffgehaltes der Hefe am Schluß der Gärung gefolgert waren.

0,04 Proz. Stickstoff wurde bei der Vergärung der 15-proz. Zuckerlösung von den drei verschiedenen Hefetypen ganz verbraucht.

Da nun die Gärwirkung bei geringer Stickstoffkonzentration mit Ammoniak am größten ist, so besteht kein Zusammenhang

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zwischen Stickstoffverbrauch und Gärwirkung bei wachsender Hefe, die sich aus minimaler Aussaat entwickelt.

Wurde auf dieselbe Weise der Stickstoffumsatz bei fortschreitender Gärung auf derselben Stickstoffkonzentration ermittelt und das Wachstum gleichzeitig durch Zählung kontrolliert, so zeigte sich, daß in einer stickstoffhaltigen Nährlösung die Gärung dauernd und über die Periode des Wachstums hinaus von einem Stickstoffumsatz, Stickstoffaufnahme und Abgabe durch die Hefe, begleitet ist.

Eine gärende Hefe, die durch große Einsaat am Wachstum gehindert wird verhält sich ebenso wie eine aus minimaler Einsaat heranwachsende. Findet sie Stickstoff in der Lösung vor, so verbraucht sie mit wachsender Konzentration dieses mehr und entläßt auch mehr in die Lösung. Auch der Stickstoffgehalt der Hefeernte wächst in solchem Falle mit steigender Konzentration der Lösung, wenn auch in weit geringerem Maße. Dagegen kann der Erntestickstoff größer oder kleiner als der der Aussaat sein, je nachdem man stickstoffarme oder -reiche Hefe verwendet hat.

Der Stickstoffgehalt einer Hefe aber ist nicht vom Stickstoffgehalt der Trockensubstanz, sondern in hohem Grade auch vom Prozentgehalt an Zellwasser abhängig. Man kann den wahren Stickstoffgehalt daher nur in Beziehung zu einer bestimmten Anzahl Zellen ermitteln, da man wasserfreie Hefe durch Trocknen nicht darzustellen im stande ist, ohne auch das Zellwasser zu verdampfen.

Bei der Vergärung reiner Zuckerlösung ist bei großer Aussaat von der Zeit der Hefeerschöpfung nur geringer Stickstoffaustritt aus der Hefe zu beobachten, so daß man im Zusammenhang mit den Resultaten Iwanoffs annehmen kann, daß nur der Nichteiweißstoff in die Nährlösung entlassen wurde.

Die Hefe treibt bei hoher Stickstoffkonzentration der Nährlösung bedeutende Luxuskonsumtion; denn weder Zellenvermehrung noch Gärwirkung werden durch den großen Stickstoffverbrauch gefördert. Auch wird der Stickstoff nicht in Form von Reservestoffen niedergelegt, sondern in die Nährlösung entlassen.

Der Stoffwechsel der Hefe steht in der Mitte zwischen dem der höheren Tiere und höheren Pflanzen. Die Hefe ist im stande, ihre Energie nur aus dem Zerfall der Kohlenstoffquelle zu schöpfen, wie die Pflanze nur Energie aus der Kohlensäureassimilation gewinnt. Die Hefe kann aber auch Energie aus der Spaltung der Stickstoffquelle gewinnen, wodurch sie sich den höheren Tieren nähert, die Energie nicht nur aus Fetten und Kohlenhydraten, sondern auch aus sich abbauenden Eiweißsubstanzen beziehen.

Teil III.

Der Einfluß der Stickstoffernährung auf die Bildung der Nebenprodukte, speziell des Fuselöl, bei der alkoholischen Gärung wurde einer Prüfung unterzogen, nachdem einmal durch eigene Resultate (dieses Centralbl. Bd. XV. 1905. p. 302) nachgewiesen war, daß Fuselöl nicht durch Bakteriennebengärungen gebildet wird und andererseits durch die Untersuchungen von F. Ehrlich (Zeitschr. des Vereins f. Rübenzuckerindustrie. 1905. No. 55. p. 539)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gezeigt wurde, daß die höheren Alkohole während der Gärung aus Aminosäuren, der Amylalkohol speziell aus dem Leucin entstehen.

Hier muß von vornherein eine getrennte Fragestellung Platz greifen. Es kann sich bei der Fuselölbildung durch Hefe einmal um die Ueberführung von ursprünglich in der Gärflüssigkeit vorhandener, in Fuselöl umwandelbarer Aminosäuren handeln. Andererseits kann auch der Fall eintreten, daß die Hefe in der Nährflüssigkeit keine solchen Stickstoffquellen findet, sondern erst durch ihren Stickstoffumsatz Aminosäuren in die Nährlösung entläßt und dann diese so gebildeten Ausscheidungsprodukte in Fuselöl umwandelt. Die erste Möglichkeit ist die im Gärbetriebe häufigste, weil sich in den natürlichen Nährmedien die Eiweißstoffe in abgebauter Form vorfinden.

Die übersichtliche Nachahmung dieser Verhältnisse ließ sich durch die Darbietung von Leucin als Stickstoffquelle für die Hefe allein, von Leucin in Kombination mit einer anderen Stickstoffquelle, Pepton, Asparagin, schwefelsaures Ammoniak oder der drei letztgenannten Stickstoffmaterialien allein erreichen. Des weiteren wurden die Substanzen in verschiedener Konzentration, jedoch in solchem Verhältnis geboten, daß die Mengen Stickstoff des besseren Vergleiches wegen sich entsprachen. Weiterhin wurde zur Entscheidung gebracht, zu welcher Lebensperiode der Hefe die Fuselölbildung vor allem erfolgt. Dann wurde geprüft, bis zu welchem Maße sich Fuselöl bei der Selbstvergärung der Hefe bildet, und wie sehr sich die Fuselölbildung dadurch steigern läßt, daß man der Hefe Selbstverdauungsprodukte ihres Eiweiß als Stickstoffquellen bietet. Darauf wurde selbstverdauender Hefe Leucin zugesetzt und durch die Fuselölbestimmung ermittelt, ob etwa die nach dem Absterben des Protoplasmas noch wirksam bleibenden Enzyme die Umwandlung der Aminosäure in Fuselöl vollziehen können. Auch die Möglichkeit der Ueberführung von Leucin in Amylalkohol durch Acetondauerhefegärung wurde geprüft und nicht gärender, aber sich auf einer anderen Kohlenstoffquelle als Zucker vermehrender Hefe Leucin als Stickstoffquelle geboten.

Dann wurde entschieden, ob durch Stickstoffvermehrung einer natürlichen Maische Fuselölbildungssteigerung oder -verminderung eintritt, und der Einfluß der Temperatur, des Säuregrades und der Säureabstumpfung, der Zuckerkonzentration und der Dauer der Gärung in das Bereich der Untersuchung gezogen. Auch die Bildung von Fuselöl durch Schimmelpilzgärung wurde mit Mucorracemosus auf Würze geprüft.

Die Methode der Fuselölbestimmung war die von E. Beckmann[1]).

Racemisches Leucin wurde bei Einsaat minimaler und großer Hefemenge verwandt. Es zeigte sich, daß durch wachsende Logoshefe bei der Vergärung der 15-proz. Zuckerlösung oberhalb 0,38 g Leucin pro 250 ccm Lösung kein Ansteigen im Fuselölgehalt des gebildeten Alkohols zu bemerken war. Bei geringerer Leucingabe ist die Fuselölbildung geringer. Bei großer Aussaat ist die Umwandlung von Leucin vom Stickstoffgehalt der Hefe abhängig. Stickstoffarme Hefe, die einen stärkeren Stickstoffumsatz zeigt, bildete mehr Fuselöl als die auf Leucin heranwachsende oder eine auf Würze vorgezüchtete. Vermindert man die Zuckergabe, so läßt sich dadurch der Prozentgehalt des gebildeten Alkohols an Fuselöl bis auf 7 Proz. steigern.

Betrachtet man nun das Verhältnis des in Amylalkohol über-

1) Zeitschr. f. d. Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln. Bd. II. 1899. 709; Bd. IV. 1901. p. 1059; Bd. X. 1905. p. 148.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geführten Leucins zum Leucingehalt der Lösung, dann zeigt sich, daß die prozentische Menge des umgewandelten Leucins mit abnehmender Leucinmenge ansteigt, um bei 0,19 g Leucin pro 250 ccm 100-proz. zu werden. Bei noch geringerer Leucinkonzentration findet sich mehr als die theoretisch mögliche Menge. Dies kann nur dadurch erklärt werden, daß durch den Stickstoffumsatz während der Gärung dieselben Stickstoffmengen mehrmals in Form von Aminosäuren wieder erscheinen und so immer neue Amylalkoholmengen aus ihnen gebildet werden. Mit großer Aussaat ist der Angriff des Leucins ein größerer. Nicht nur die natürlich vorkommende optisch aktive Komponente, sondern auch die andere kann durch die Hefe angegriffen werden.

In Abwesenheit von Fuselöl gebenden Aminosäuren mit Pepton, Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak als Stickstoffquellen wachsende und gärende Hefe verschiedener Art erzeugt nie das Maximum des durch sie bei Gegenwart von Leucin gebildeten Fuselölmenge. Je geringer die gebotene Stickstoffgabe der Nährlösung an assimilierbarem Stickstoff, desto geringer die Menge des gebildeten Fuselöls, bis zu einem niedrigsten Punkte der Stickstoffgabe, der für die Erzielung minimaler Fuselölmengen mit Rücksicht auf die Gärungstechnik optimal ist, von dem aus sich nach unten (wie nach oben) die Menge des sich bildenden Fuselöls steigert. Die Erklärung für die wachsende Bildung von Fuselöl bei zunehmender Stickstoffgabe liegt in dem durch diese angeregten Stickstoffumsatz, die für die gesteigerte Fuselölbildung bei sehr geringer Stickstoffkonzentration in der vorher geschilderten wiederholten Ausnutzung derselben Stickstoffmenge, somit der Hefeausscheidungsprodukte durch die Hefe.

Durch die Anwesenheit einer anderen Stickstoffquelle wird die Menge des aus Leucin — wenn dieses allein vorhanden ist — gebildeten Fuselöls herabgesetzt, durch den Zusatz von Leucin die auf einer anderen Stickstoffquelle — wenn diese allein vorhanden ist — gebildete Fuselölmenge heraufgesetzt.

Ueber die zeitliche Bildung von Fuselöl während Gärung läßt sich Gesetzmäßiges nur in Beziehung zur Zusammensetzung der Nährlösung aussagen. Bei der Vergärung von Würze durch Hefereinkultur trat keine Steigerung in der Menge des gebildeten Fuselöls, bezogen auf die gleichzeitig gebildete Alkoholmenge gegen das Ende der Gärung hin, auf, wie das früher angegeben wurde, sondern das Verhältnis Fuselöl zu Alkohol war während der ganzen Gärdauer dasselbe. Mit schwefelsaurem Ammoniak traten Schwankungen im Verhältnis Fuselöl zu Alkohol an verschiedenen Gärtagen auf, die ein Ansteigen des Faktors vom 12. bis zum 24. Tage und von da einen Abfall bis zum Ende der Gärung zeigten. Dies läßt zu den mit derselben Stickstoffquelle gewonnenen Resultaten über den zeitlichen Stickstoffumsatz während der Gärung in Beziehung setzen. Bei ursprünglicher Gegenwart von in Fuselöl überführbarer Aminosäure, in einer Kombination von Pepton und Leucin als Stickstoffquelle, fällt das Maximum der Fuselölbildung in die erste Gärperiode.

Der bei der Hefeselbstvergärung gebildete Alkohol wurde ziemlich reich an Fuselöl befunden. Zieht man jedoch in Betracht, daß die Menge des bei der Glykogengärung gebildeten Alkohols nur gering ist, so ist die Fuselölbildung im Vergleich zur Menge der selbstvergärenden Hefe nur gering. Bei der Zuckergärung mit Hefeselbstverdauungsprodukten als Stickstoffquelle war der gebildete Alkohol

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht reich an Fuselöl. Bei der Selbstverdauung der Hefe in Gegenwart von Leucin zeigte sich, daß Hefe, die keine Gärkraft zu entfalten Gelegenheit hat und die nicht wächst, auch keine enzymatische Ueberführung von Leucin in Amylalkohol besorgt. Durch den Eiweißaufbau wachsender, aber an der Gärung durch die Abwesenheit von Zucker gehinderter Hefe findet keine Ueberführung von Leucin in Fuselöl statt. Da die Umwandlung von Leucin in Fuselöl an den Stickstoffumsatz der Hefe gebunden ist, der sich in abgetöteter Hefe nicht mehr vollzieht, so ist es nur natürlich, daß auch bei der Acetondauerhefegärung keine solche Ueberführung zu erreichen war.

Säureabstumpfung steigert die Fuselölbildung, die durch die Anwesenheit geringer Säuremengen gemindert wird. Dadurch läßt sich aber noch nicht der Schluß ziehen, daß die Nebenentwickelung von anderen Organismen, z. B. Buttersäurebakterien, die wegen der resistenten Spuren besonders in Betracht kommen, die Fuselölbildung nicht vermehrt. Denn durch diese Bakterien leidet die Hefe infolge der Anwesenheit von Stoffen, die wir analytisch nicht fassen können, sehr, so daß infolge ihres Eiweißzerfalls auch mehr Fuselöl gebende Aminosäuren in die Nährlösung kommen. Bei höherer Temperatur bildet sich mehr Fuselöl als bei niederer, dagegen war der Einfluß der Zuckerkonzentration innerhalb der geprüften Werte kein ausgeprägter.

Der Einfluß verschiedener Hefearten auf die Menge des gebildeten Fuselöls kann wieder nur im Zusammenhang mit der Zusammensetzung der Nährlösung betrachtet werden.

So bildet z. B. Frohberg-Hefe mit Pepton mehr Fuselöl als Logos-Hefe, während sich auf Bierwürze das Verhältnis umkehrt. Ebenso entsteht mit Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak als Stickstoffnahrung durch Weinhefe mehr Fuselöl als durch Logos, auf Würze dagegen durch Logos-Hefe mehr. Auf derselben Würze ordnen sich die Hefen bei sonst ganz gleichen Bedingungen in der Intensität ihrer Fuselölbildung wie Saaz-, Wein-, Logos- und Frohberg-Hefe an. Frohberg-Hefe bildet dabei fast doppelt so viel wie Saaz-Hefe.

Durch künstliche Stickstoffvermehrung einer natürlichen Maische ließ sich die Fuselölbildung stark, auf weniger als die Hälfte, vermindern. Das kann nur dadurch seine Erklärung finden, daß die als Eiweißabbauprodukte reichlich vorhandenen Fuselöl gebenden Aminosäuren durch die zugesetzte Stickstoffnahrung gedeckt wurden. Da zu diesem Zwecke das billige schwefelsaure Ammoniak Verwendung fand, so muß die Frage erwogen werden, ob sich in der Praxis mit Hilfe dieser Methode ein besserer Alkohol herstellen läßt?

Auch Mucor racemosus bildete auf Würze Fuselöl. Der Prozentgehalt des durch ihn gebildeten Alkohols an diesem Produkt war höher als bei Hefe.

Wir kommen zum Schluß zu folgenden allgemeinen Schlüssen. Außer durch die Anwesenheit Fuselöl gebender Aminolösung in der Nährlösung wird die Fuselölbildung durch ungünstige Lebensbedingungen der Hefe intensiert. Solche sind hohe Gärtemperatur, Stickstoffmangel und Ueberfütterung der Hefe mit Stickstoff. Schwacher Säuregrad, der auf das Leben der Hefe günstig wirkt, setzt auch die Fuselölbildung herab.

Die Frage nach der Rolle, welche die Fuselölbildung im Leben der Hefe spielt, ist ebenso wie die nach der Alkoholbildung schwer zu be-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

antworten. Der Energiegewinn, der der Hefe durch die Umwandlung der Aminosäuren in Fuselöl erwächst, ist im Vergleich zu dem aus der Zuckerspaltung gezogenen gering. Auch kann die Abwehrung von Fremdorganismen durch die Giftigkeit des Fuselöls bei gleichzeitiger Anwesenheit von soviel mehr Alkohol kaum von Nutzen sein.

Wir haben aber gesehen, daß alle untersuchten Gärungsalkohole Fuselöl enthalten. Durch die Stickstoffausscheidungsprodukte kommen immer Fuselöl gebende Aminosäuren in die Nährflüssigkeit, auch wenn solche ursprünglich nicht vorhanden waren. Durch den Stickstoffumsatz, die Aufnahme des Stickstoffs während der ganzen Gärdauer unter gleichzeitiger Ausscheidung von stickstoffhaltigen Produkten durch die Hefe werden diese Aminosäuren immer in Fuselöl verwandelt. Man kann also sagen, keine Gärung ohne Fuselöl gebende Aminosäuren in der Gärflüssigkeit, folglich auch keine Gärung ohne gleichzeitige Bildung von Fuselöl.

Das Fuselöl ist also kein Nebenprodukt der Zuckerspaltung, sondern ein Stoffwechselprodukt der Hefe.

Das gleiche läßt sich auch vom Glycerin und der Bernsteinsäure sagen. Die Analogie zwischen den Faktoren, die die Fuselölbildung und besonders die des Glycerins beeinflussen, ist eine große. Die Bildung beider hängt von der Lebensenergie der Hefe ab, sie wird durch reichliche Ernährung, z. B. durch stickstoffhaltige Produkte gesteigert, hohe Temperatur und Zuckerkonzentration setzt sie herauf, geringer Säuregrad der Nährlösung vermindert beide. Bei Reinkulturgärung tritt infolge der günstigen Lebensbedingungen für die Hefe wenig Fuselöl und Glycerin auf. Bei der Hefeselbstvergärung wurden beide Stoffwechselprodukte beobachtet, wogegen bei der zellfreien Gärung nur minimale Mengen aufgefunden wurden. Hohe Temperatur vermehrt auch die Bernsteinsäurebildung.

Da bis jetzt alle Theorieen über die Quelle des Glycerins bei der alkoholischen Gärung unbefriedigende sind, wird man gut daran tun, nach dem Ausgangsmaterial für diesen Körper unter den Ausscheidungsprodukten der Hefe zu suchen. Wahrscheinlich wird es sich auch um einen stickstoffhaltigen Körper handeln. Autorreferat.

Nachdruck verboten.

Report of the Soil Chemist and Bacteriologist.

[XXVI. annual report of the New Jersey State Agricultural Experiment Station, New-Brunswick.]

II. Teil. Azotobacter-Studien.

Im Anschluß an die bodenbakteriologischen Untersuchungen über die Fäulniskraft macht der Berichterstatter Lipman Studien über die verschiedenen Azotobacter-Arten. Die Versuche, die unten angeführt sind, wurden mit verschiedenen Kulturen aus dem Jahre 1903, 1904 und 1905 durchgeführt. A. vinelandii, im Jahre 1903 isoliert, zeigt, daß die stickstoffbindende Kraft seitdem keineswegs verloren gegangen ist. Auch A. Beyerincki und A. chroococcum hatten ihre Originalkraft behalten, atmosphärischen Stickstoff zu binden. Wie die unten beschriebenen Versuche zeigen werden, ist A. vinelandii weit den A. Beye-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rincki und A. chroococcum überlegen; aber die beiden letzteren können ihre Ausbeute sehr vermehren, wenn sie zusammen mit anderen Organismen aufwachsen. Verf. erwähnt noch eine andere Azotobacter-Art, A. woodstownii, der aber gar nicht die Fähigkeit besitzt, irgendwelchen atmosphärischen Stickstoff zu binden.

100 ccm-Portionen von Mannitlösung, in der gewöhnlichen Art dargestellt[1]), wurden in 1000 ccm, 500 ccm und 250 ccm fassende Erlenmeyerkolben gebracht, gut sterilisiert, abgekühlt und geimpft mit einer starken Reinkultur von A. vinelandii. Die 10 verschiedenen Reinimpfungen waren jedesmal in Zwischenräumen von 5 Tagen isoliert worden. Die erste Impfung geschah am 3. Februar 1905. Die Beobachtungstemperatur war 28°. Wachstum wurde schon nach 24 Std. beobachtet und nach Verlauf von 5 Tagen zeigten die verschiedenen Erlenmeyerkolben verschiedene Färbung. Stickstoffbestimmungen wurden nach je 10 Tagen ausgeführt.

Geimpft:	Analyse:	in 1000 ccm-	500 ccm-	250 ccm-Flaschen
Febr. 3.	Febr. 13.	18,33 mg N	20,99 mg N	18,30 mg N
„ 8.	„ 18.	20,66 „	17,98 „	17,67 „
„ 13.	„ 23.	18,93 „	17,04 „	17,35 „
„ 18.	„ 28.	18,61 „	17,35 „	14,83 „
„ 23.	März 6.	17,35 „	14,83 „	12,62 „
„ 28.	„ 10.	11,52 „	10,52 „	12,47 „
März 6.	„ 16.	11,36 „	10,74 „	11,21 „
„ 10.	„ 20.	10,67 „	12,56 „	15,22 „
„ 15.	„ 25.	11,14 „	13,34 „	14,60 „
„ 20.	„ 30.	11,14 „	12,24 „	15,07 „
„ 25.	Apr. 4.	11,68 „	12,20 „	10,24 „
„ 25.	„ 4.	11,03 „	12,95 „	11,52 „
„ 30.	„ 14.	10,24 „	12,95 „	9,28 „
„ 30.	„ 14.	11,03 „	11,20 „	9,91 „

Dieser Versuch könnte zuerst den Glauben rechtfertigen, daß ältere Reinimpfungen von A. vinelandii geneigt sind, eine größere Menge atmosphärischen Stickstoff zu binden, wenn sie in ein passendes frisches Nährsubstrat übertragen werden und wenn eine reichliche Luftzufuhr auf die Kulturlösung einwirkt; aber wie aus obiger Tabelle hervorgeht, kann auch der umgekehrte Fall eintreten, wenn man die Reinimpfungen in zu großen Zwischenräumen in frische Nährlösungen ausführt. Aber die Abnahme erreicht bald einen Punkt, von wo an die Menge an gebundenem Stickstoff ziemlich konstant bleibt. Andere Azotobacter-Arten verhalten sich in dieser Hinsicht ganz ähnlich wie A. vinelandii. Erlenmeyerkolben von 1000 ccm, 500 ccm, 200 und 250 ccm Inhalt, die 100 ccm-Portionen Mannitlösung enthielten, wurden in der gewöhnlichen Art sterilisiert und dann mit Kulturen von A. Beyerincki und A. chroococcum geimpft. Es wurde gefunden, daß A. Beyerincki im Durchschnitt 6,36 mg N in den 1000 ccm-Flaschen, 5,72 mg N in den 500 ccm- und 5,33 mg N in den 250 ccm-Flaschen gebunden hatte. Bei A. chroococcum war der Betrag im Durchschnitt in den 1000 ccm 8,16 mg N; in den 500 ccm 7,61 mg N und 5,33 mg in den 250 ccm-Flaschen. Es ist also als sicher anzunehmen, daß auch bei diesen beiden Azotobacter-Arten, ähnlich wie bei A. vinelandii, durch mehr Luftzutritt die stickstoffbindende Kraft vergrößert wird, so daß es ganz wahrscheinlich ist, daß die stickstoffbindende Kraft noch weiter zunehmen könnte, wenn man Luft durch die Kulturlösung leiten würde während der ganzen Dauer des Versuches.

1) N. J. St. Rep. 1904. p. 263.

Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Auch ältere Kulturen von A. Beyerincki, in frische Nährsubstrate gebracht, verhalten sich ganz ähnlich wie die von A. vinelandii, wie oben schon gezeigt wurde. Zu dem Vergleich gelangten hier A. Beyerincki, der ein Jahr vorher isoliert worden war, A. Beyerincki frisch isoliert aus einem Gewächshausboden, A. Beyerincki frisch isoliert aus einem urbaren Rasenboden. Die Impfung geschah am 16. Februar in 100 ccm-Portionen Mannitlösung, in 500 ccm Jenenser Kolben enthalten. Nebenbei wurden zwei Lösungen mit frischer Kultur von A. Beyerincki geimpft, der noch B. 36 hinzugefügt war. Am 26. Februar wurden Stickstoffbestimmungen ausgeführt, die Resultate waren die folgenden:

Kultur-No.	Impfung	Gebundener N in mg
1	A. Beyerincki, alte Kultur	3,63
2	„ „ „	3,31
3	„ frisch, Gewächshausboden	3,63
4	„ „ „	6,78
5	„ „ Rasenboden	2,37
6	„ „ „	2,68
7	„ „ Gewächshausboden + B. 36	7,89
8	„ „ „ + B. 36	8,04

Bei A. Beyerincki, frisch isoliert aus Gewächshausboden, zeigt sich merkwürdigerweise bei der einen Kultur fast der doppelte Ertrag an gebundenem Stickstoff wie bei der anderen. Der Verfasser erklärt das durch schnelleres Wachstum in der Kultur; ähnliche Vorfälle sind schon wiederholt beobachtet worden und zwar am häufigsten bei A. Beyerincki, wie folgende Versuchsanordnung zeigt (100 ccm Mannitlösung):

Kultur-No.	Impfung	Gebundener N in mg
1	A. Beyerincki, Gewächshausboden	1,57
2	„ „	2,20
3	„ eine stärkere Kultur	7,85
4	„ „	7,72
5	Wie in 1 und 2 + B. 36	9,10
6	„ „ 1 „ 2 + B. 36	8,63
7	„ „ 3 „ 4 + B. 36	8,63
8	„ „ 3 „ 4 + B. 36	7,85
9	„ „ 1 „ 2 + B. 37	10,51
10	„ „ 1 „ 2 + B. 37	9,26
11	„ „ 3 „ 4 + B. 37	9,73
12	„ „ 3 „ 4 + B. 37	9,26

Aus den zwei zuletzt angeführten Tabellen ersieht man, daß der Verf. die Mannitlösungen zum Teil mit Azotobacter-Arten geimpft hat, die zusammen mit anderen Bacillen aufgewachsen waren, und zwar mit B. 36 und B. 37. Die Beziehungen, die einerseits zwischen diesen beiden Bakterienarten und zwischen frischen und alten Kulturen andererseits bestehen, bringt am besten folgende Tabelle zum Ausdruck. Dieselbe Mannitlösung wurde angewendet, und die übrigen Bedingungen waren dieselben wie bei den vorangehenden Versuchen.

(Siehe Tabelle p. 321.)

[Es sei hier nochmals auf die große Differenz zwischen den Kulturen 9 und 10 aufmerksam gemacht, die, wie oben berichtet, bei A. Beyerincki oft vorkommt.]

Durch Vermehrung des Nährsubstrates kann die stickstoffbindende Kraft der Azotobacter-Arten, scheinbar allerdings nur bis zu einer gewissen Grenze, verstärkt werden. Sechs verschiedene Kulturlösungen

Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Kultur-No.	Impfung		Gebundener N in mg
1	A. vinelandii		13,33
2	„		11,30
3	„ + B. 36		16,17
4	„ + B. 36		16,01
5	„ + B. 37		9,10
6	„ + B. 37		9,73
7	A. Beyerincki, alte Kultur		4,87
8	„ „ „		4,39
9	„ starke „		5,65
10	„ „ „		10,67
11	„ alte „	+ B. 36	9,26
12	„ „ „	+ B. 36	9,42
13	„ „ „	+ B. 37	8,95
14	„ „ „	+ B. 37	9,42
15	„ starke „	+ B. 36	9,42
16	„ „ „	+ B. 36	8,63
17	„ „ „	+ B. 37	8,63
18	„ „ „	+ B. 37	8,16

wurden am 23. Februar 1905 mit A. vinelandii geimpft. Zwei davon enthielten 100 ccm Mannit, weitere zwei 200 ccm Mannit und die letzten enthielten 300 ccm Mannit. Beobachtungstemperatur war 28°. Am letzten Tag, am 18. März, wurden die verschiedenen Kulturen mit Phosphor-Wolframsäure behandelt, filtriert und das Filtrat und Niederschlag nach der Kjeldahlschen Methode behandelt. Das Ergebnis war folgendes:

Kultur-No.	Impfung		Gebundener Stickstoff Filter	Filtrat	Total
1	A. vinelandii	100 ccm Mannit	9,10 mg	2,35 mg	11,45 mg
2	„		10,83 „	1,88 „	12,71 „
3	„	200 ccm Mannit	19,62 „	4,55 „	24,17 „
4	„		19,46 „	4,39 „	23,85 „
5	„	300 ccm Mannit	22,28 „	4,87 „	27,16 „
6	„		22,60 „	4,24 „	26,84 „

Da in den 200 ccm-Mannitkulturen die größten Stickstoffmengen gebunden wurden, so führte der Verfasser anschließend einen größeren Versuch mit 200 ccm-Portionen Mannitlösungen aus, um das allmähliche Anwachsen von gebundenem Stickstoff zu zeigen. Der ganze Versuch wurde mit 30 Flaschen, 200 ccm Mannitlösung enthaltend, ausgeführt. Die Impfung mit A. vinelandii fand am 1. Februar statt. Bei 10 Kulturen wurde im Zwischenraum von je 3 Tagen der Gesamtstickstoff bestimmt, weitere 10 Kulturen wurden mit basischem Bleiacetat behandelt und der Stickstoff sowohl im Niederschlag als auch im Filtrat bestimmt. Zu den letzten 10 Kulturen wurde Phosphor-Wolframsäure hinzugesetzt, filtriert, und der Stickstoff im Niederschlag und auch im Filtrat bestimmt. Es zeigte sich die merkwürdige Tatsache, daß die Stickstoffmengen in den durch Bleiacetat bezw. Phosphor-Wolframsäure entstandenen Niederschlägen + Filtrat größer waren als die bei den Gesamtstickstoffbestimmungen. Der Verf. nimmt an, daß die Kulturen eine kleine Menge stickstoffhaltiger Substanzen besitzen, die beim Erhitzen der Kulturen flüchtig sind; daß dagegen diese stickstoffhaltigen Substanzen durch basisches Bleiacetat und Phosphor-Wolframsäure niedergeschlagen werden.

Verf. führt alsdann noch eine Reihe Versuche aus mit A. vinelandii und A. Beyerincki, wo er zu der Mannitlösung verschiedene Nährsalze und Nährlösungen hinzufügt. Als Nährsalze oder Nährlösungen benutzte er $Fe_2(SO_4)$, Fe_2O_3, Fe_3O_4, $FeCl_3$, $MnSO_4$, $NiCl_2$, $CoCl_2$,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pepton, Natriumacetat, propionsaures, buttersaures und valeriansaures Natrium. Das Ergebnis seiner Untersuchungen war kurz folgendes: A. vinelandii zeigte überall, wo obige Nährsalze oder Nährlösungen zugesetzt waren, eine ziemlich gute, sich fast immer gleichbleibende Kraft, atmosphärischen Stickstoff zu binden. Nur wenn von Kobaltchlorid mehr als 1 mg vorhanden war, dann verlor A. vinelandii plötzlich seine ursprüngliche Kraft ganz und gar, er bindet dann überhaupt keinen Stickstoff mehr; Kobaltchlorid in größeren Mengen erweist sich also als ein starkes Gift für A. vinelandii. Mit A. Beyerincki hat der Verf. in dieser Hinsicht nur zwei Versuche ausgeführt. Es zeigte sich wiederum hier, daß A. Beyerincki nicht fähig ist so viel atmosphärischen Stickstoff zu binden, trotz der Nährsalze, wie A. vinelandii, teilweise kommen auch hier die bereits oben erwähnten Unregelmäßigkeiten vor.

Zum Schlusse seiner Abhandlung gibt der Verf. noch einige Daten über den Mechanismus der Stickstoffbindung durch die Azotobacter-Arten. Unsere Kenntnisse von dem Prozeß der Stickstoffbindung sind noch äußerst begrenzt. Frühere Studien ließen den Verf. glauben, daß das erste Produkt oder wenigstens eins der ersten Produkte in dem Prozeß der Stickstoffbindung irgendwelche Aminosäure sei, vielleicht Alanin (Amino-Propionsäure). Kulturen, die durch unglasiertes Porzellan filtriert wurden, gaben ein vollständig klares Filtrat, in welchem noch bestimmbare Mengen von gebundenem Stickstoff vorhanden waren. Dieses Filtrat kann möglicherweise Albumose sein, braucht aber keineswegs als erstes Produkt bei dem Prozeß der Stickstoffbindung durch A. vinelandii angesehen zu werden. Trieschmann (Bonn).

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation, Berlin.

Schönfeld, F., Weitere Untersuchungen über die Schleimkrankheit des Berliner Weißbieres. (Vortrag.) (Jahrbuch des Vereins „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin". Bd. IX. p. 415.)

Verf. hat, seine Untersuchungen über den schleimbildenden Pediococcus viscosus im Berliner Weißbier fortsetzend, festgestellt, daß ausschließlich diese Organismen unter gleichzeitiger teilweiser Unterdrückung des Wachstums der Milchsäurebakterien der Weißbierhefe das Langwerden der Biere verursachen. Die Schleimkrankheit ist in ihrem Auftreten nicht abhängig von der Anzahl der in einem Biere vorhandenen Pediokokken. Die zahlreichen im schleimigen Weißbier enthaltenen Pediokokken vermögen, isoliert, keine Schleimbildung hervorzurufen; die schleimbildenden tun dies innerhalb sehr verschiedener Zeit, d. h. sie besitzen bei verschiedener Herkunft sehr verschiedene Wachstumsgeschwindigkeit. Die Fähigkeit Schleim zu bilden, ist an die Art des Nährsubstrats gebunden. Die nicht Schleim bildenden Pediokokken zeigen unter sich große Unterschiede im Grad der Säurebildung, im Geruch und Geschmack des mit ihnen geimpften Bieres. Die Schleim bildenden Pediokokken erzeugen nahezu den gleichen Säuregrad und stets sehr unangenehmen Geschmack.

Verf. ist es erst nach Ueberwindung großer Schwierigkeiten gelungen, aus Ausstoßbieren durch „Anhäufung" und Anwendung niedriger Temperaturen die schleimbildenden Pediokokken zu isolieren und in der letzten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit ist es auch geglückt, in Proben von Bottichbieren nach $2^1/_2$-monatlichem Stehen bei 10° die Schleimbildner nachzuweisen. Aus verschiedenen Brauereien entnommene Weißbiere, auf sterile Flaschen gefüllt, wurden niemals lang. Es stimmt dies mit den Angaben der Brauereien überein, die das Langwerden in ihren Betrieben niemals beobachten, wohl aber tritt diese Veränderung häufig bei den Wirten auf. Verf. nimmt als Ursache hiervon die häufig bei den Wirten vorgenommene Verdünnung des Weißbieres mit Wasser an, wodurch die nötige Konzentration der Schutzstoffe des Bieres (Alkohol, Milchsäure, Kohlensäure und Hopfenharz) verschwindet. Verf. empfiehlt daher zur Vermeidung des Langwerdens kräftige Säuerung, größere Hopfenmenge und „grüneren“ Ausstoß, um noch eine möglichst große Zahl kräftiger Milchsäurebakterien und widerstandsfähiger Hefezellen als beste Abwehrmittel gegen Schleimbildner in das fertige Bier gelangen zu lassen. Rommel (Berlin).

Schönfeld, F., Ist der Hefeauftrieb als wesentliches Charakterisierungsmerkmal bei der Obergärung anzusehen und liegen Erfahrungen darüber vor, daß die obergärigen Hefen durch die Gärführung ihr Auftriebsvermögen verlieren können? (Vortrag.) (Jahrbuch des Vereins „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin“. Bd. IX. p. 451.)

Die älteste, in England noch heute ausschließlich angewandte Art der Biergärung ist die Obergärung, die sich im wesentlichen charakterisiert durch das Aufsteigen der Hefezellen, den „Auftrieb“ und das Ansammeln der Zellen auf der Oberfläche des Bieres. Verf. bespricht eingehend die Verhältnisse in deutschen, holländischen und englischen obergärigen Brauereien und erörtert die vorhandenen Unterschiede in der Gärführung. Es läßt sich feststellen, daß der Hefenauftrieb als wesentliches Charakterisierungsmerkmal bei der Obergärung anzusehen ist und bei sachgemäßer Behandlung der Hefe stets vorhanden ist. Allerdings können obergärige Hefen unter sehr ungünstigen Verhältnissen (z. B. sehr starke Infektion durch Bakterien), die jedoch in den Brauereibetrieben ausgeschlossen sind, das Auftriebvermögen verlieren. Versuche im Laboratorium ergaben, daß der Auftrieb bei sehr geringer Hefenaussaat und niedriger Temperatur ausbleiben kann.

Rommel (Berlin).

Schönfeld, F., Die Sarcinafrage auf Grund neuerer Versuche. (Vortrag.) (Jahrbuch des Vereins „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin“. Bd. IX. p. 590.)

Die Ergebnisse der mit Sarcinen aus zahlreichen Lager- und obergärigen Bieren vorgenommenen Versuche gehen dahin, daß es mehrere Arten dieser Organismen gibt, welche im Bier gedeihen können, daß diese ein verschiedenes Säuerungsvermögen besitzen und daß anscheinend die schwach säuernden die für das Bier gefährlicheren, ihm den bekannten an Honig erinnernden Geruch verleihenden sind. Verf. hält für möglich, daß sich in Bieren auch solche Sarcinen finden, die keine Krankheitserscheinungen hervorrufen können und stellt fest, daß die Akklimatisation bei dem Auftreten der Sarcinen eine große Rolle spielt. Im Brauereibetriebe ist jede Sarcina als verdächtig anzusehen, da der Nachweis der Schädlichkeit nur auf dem umständlichen Wege der Isolation und der darauffolgenden künstlichen Hervorrufung der Krankheitserscheinungen möglich ist. Rommel (Berlin).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bettges, D. W., Zum Nachweis von Sarcinen. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XXIV. No. 12.)

Verf. hatte vor einiger Zeit eine Methode zum schnellen und sicheren Nachweis von Sarcinen veröffentlicht, die auf der Verwendung eines neuen Nährsubstrats (endvergorenes, ungehopftes, kleistertrübes Bier) beruhte. Der Verf. berichtet jetzt über weitere Erfahrungen bei der Herstellung und Verwendung dieses inzwischen auch von Schönfeld und Will mit gutem Erfolg verwendeten Substrats, insbesondere über seine Nachprüfung mit Bezug auf den für den Sarcina-Nachweis geeignetsten Alkoholgehalt. Rommel (Berlin).

Kornauth, K., Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen und Pflanzenschutzstation in Wien für das Jahr 1906. (Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1907. p. 198.)

Die Tätigkeit der Versuchsstation ist eine sehr ausgebreitete und umfangreiche, da sie sich nicht allein auf ihr eigentliches Arbeitsgebiet beschränkt, sondern auch die mikroskopische und bakteriologische Untersuchung von Lebens- und Genußmitteln und Futtermitteln durchführt, von welchen Produkten insgesamt 1348 Objekte zur Untersuchung gekommen sind. Die Zahl der an Interessenten abgegebenen Bakterienkulturen für die Bekämpfung der schädlichen Nager hat eine bedeutende Steigerung gegenüber dem Vorjahre erfahren und es wurden Kulturen abgegeben: an Parteien 1287 (894), Mäusetyphuskulturen 9333 (5019) und Rattenbacillenkulturen 2437 (1350). Auch die Organisation des Pflanzenschutzes hat weitere Fortschritte gemacht und wird im Laufe des Jahres 1907 hoffentlich vollständig beendet sein. Bis Ende 1906 sind dem Verband der Organisation 1060 Berichterstatter und 30 Auskunftstellen beigetreten. Der Wert des Berichterstatterwesens hat sich bereits einige Male in höchst günstiger Weise gezeigt; so hat z. B. eine Umfrage bezüglich des Vorkommens des falschen Meltaues an Gurken ein klares Bild über den Umfang der Verbreitung dieser Krankheit in Oesterreich ermöglicht. Im Berichtsjahre gelangten 639 (456) tierische und 603 (360) pflanzliche Objekte zur Untersuchung und außerdem wurden 2036 (1019) Anfragen beantwortet. Der Bericht führt die eingesandten Pflanzenkrankheiten und Schädlinge (die parasitären Krankheiten verteilt nach Art und Kronland) an und hebt auch die Mitteilungen der Berichterstatter des Pflanzenschutzdienstes hervor, so daß dadurch ein genaues Bild über das Auftreten der Krankheiten und der Schädlinge der Kulturpflanzen in Oesterreich gegeben wird. Im allgemeinen kann das Jahr 1906 in Bezug auf die Witterung als ein günstiges bezeichnet werden; nur die abnorm starken Niederschläge zu Ende der Vegetationsperiode machten sich im Vereine mit der niedrigen Temperatur in manchen Gegenden, hauptsächlich im Wein- und Obstbau, unangenehm bemerkbar. Auffallend waren die zahlreichen Frostwirkungen im Obstbau. Auch die Chlorose trat an verschiedenen Kulturpflanzen auf. Die Gerstenstreifenkrankheit (durch pilzliche Schädlinge hervorgerufen) hat nicht selten einen Ernteausfall von 20 und noch mehr Prozenten bedingt. Geradezu verheerend ist Plasmopara Cubensis auf Gurken in fast allen Kronländern der Monarchie aufgetreten. Ungemein häufig und weit verbreitet war der Schorf an Aepfel- und Birnbäumen, sowie die Monilia, häufig waren auch Bakterienkrankheiten der Kartoffel (darüber einigemale

Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

die neu beschriebene Bakterienringkrankheit). Am Getreide trat ziemlich stark Brand auf und hat hier das Beizen mit Formaldehyd im allgemeinen günstig gewirkt. Zum ersten Male wurde in Oesterreich das Auftreten des nordamerikanischen Stachelbeermeltaues (Sphaerotheca mors uvae) beobachtet. Besonders stark trat die Lärchenminiermotte (Coleophora laricella) auf, doch war der Schaden kein bedeutender. Viel bedenklicher ist jedoch das starke Auftreten der Nonne (Psilura monacha) in den nördlichen Kronländern Oesterreichs, so daß wieder eine Nonnenkalamität zu befürchten ist. Das anderswärts ziemlich regelmäßig beobachtete Auftreten der Blattgallen bewohnenden Generation der Reblaus (sogenannten Phylloxera gallicola) an amerikanischen Reben war ziemlich selten. In erster Linie für den Obstbau gefahrdrohend ist das Ueberhandnehmen der Raupenplage und zwar insbesondere der Raupen des Goldafters, Baumweißlings, Schwammspinners und des Ringelspinners und von Gespinstmotten, zu deren Bekämpfung, trotz bestehender Landesgesetze in einzelnen Kronländern, von der Bevölkerung sehr wenig getan wird. Viel geklagt wurde über das Auftreten der Apfelblütenstechers (Anthonomus pomorum) und des Apfelwicklers (Carpocapsa pomonella). Verheerend war das Auftreten der Hopfenblattlaus in Nordböhmen, die enorme Verluste verursachte. Leider sind noch keine wirksamen Bekämpfungsmaßregeln bekannt; die in unseren Ländern erzeugten Spritzen erscheinen nur für einzelne Fälle geeignet, da sie in größeren Hopfengärten nur mit Aufwand bedeutender Mittel anwendbar sind und die englischen und amerikanischen Spritzen sind den lokalen Verhältnissen des einheimischen Hopfenbaues nicht angepaßt und können daher nicht zur Verwendung kommen. Die für die Seidenzucht gefährliche Schildlaus (Diaspis pentagona) wurde in Südtirol und Triest aufgefunden und fand die Einschleppung wahrscheinlich aus verseuchten italienischen Maulbeergebieten schon vor Jahren statt, wobei die Laus Gelegenheit hatte, sich unbemerkt auszubreiten. Die sofort eingeleitete Bekämpfung bestand im Aushauen der total verlausten, sowie wertloser, befallener Pflanzen, Rückschneiden und Bespritzen mit Teersodaemulsion der zu erhaltenden verlausten Objekte, wobei die Erfolge, soweit sich dies übersehen läßt, gute waren.

Der Bericht gedenkt sodann weiter der auf den Versuchsfeldern in Eisgrub im Großen durchgeführten praktischen Versuche. Die über den Einfluß von Knöllchenbakterienimpfung bei Erbsen angestellten Versuche führten dahin, daß der Ertrag der geimpften Parzellen nicht größer war als der der ungeimpften; auch durchgeführte Laboratoriumsversuche haben bis jetzt ein gänzlich negatives Resultat ergeben. Zur Bekämpfung der Plasmopara Cubensis auf Gurken hat sich eine Bodeninfektion (Schwefelkohlenstoff, Formaldehydlösung) des verseuchten Bodens als vorteilhaft erwiesen, während hingegen eine Samenbeize wegen Schwächung der Keimkraft keine guten Resultate ergeben hat. Auf Grund weiterer Versuche wird die Iszleibsche Saatgutimprägnation für die Praxis nicht empfohlen. Was die Chlorose der Birnbäume anbetrifft, so erscheint es ziemlich wahrscheinlich, daß nicht immer Eisenmangel Ursache dieser Erscheinung ist, sondern daß eine fehlerhafte Verwachsung an der Veredelungsstelle und dadurch bedingte Ernährungsstörungen als Ursache anzusehen sind. Einige Versuche, die Einwirkung der Bodendesinfektion auf das Wachstum verschiedener Pflanzen zu prüfen, haben ergeben, daß bei allen in die Versuche einbezogenen Pflanzen und Desinfektions-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verfahren (Einspritzen von Schwefelkohlenstoff, Aufguß einer 0,8-proz. Formaldehydlösung) bei Kartoffeln, Sellerie, Gurken, eine Beeinträchtigung des Wachstums der Pflanzen durch diese Bodeninfektion nicht eintrat. Zur Erprobung kamen weiterhin zahlreiche Pflanzenschutzmittel, von welchen die im Handel befindlichen Mittel „Plantol I“ und „Plantol II“ nicht empfohlen werden können, da ihre Wirksamkeit erst bei einer solchen Konzentration beginnt, wo selbe für die Pflanzen nicht mehr ganz ungefährlich erscheint. Das „New Insekticide and Spraying Liquor“ von Hart und M'Kerrow in Manchester ist zwar etwas wirksamer, doch zu teuer; „Tuv“ von Ermisch in Burg bei Magdeburg gab gute Resultate, doch kommt es wegen seines ziemlich hohen Preises für größere Obstbaubetriebe nicht in Betracht. Versuche über die Fortpflanzungsfähigkeit und Lebensfähigkeit des indischen Kornkäfers oder Reiswurms (Calandra oryzae) haben ergeben, daß sich dieser Schädling in Getreidevorräten (insbesondere Mais, Weizen, Gerste, Roggen) fortentwickeln kann, wenn diese im Winter in geheizten Räumen aufbewahrt werden, während hingegen alle Reiskäfer, welche in einem ungeheizten Dachraum gehalten wurden, eingingen. Die Tiere vertragen augenscheinlich die Winterkälte nicht. Daraus erhellt, daß die Einschleppung dieses Schädlings noch nicht die Gefahr seiner dauernden Ansiedelung in sich schließt, obwohl vorübergehende Schädigungen von ansehnlichem Umfange sich leicht einstellen können, wenn, wie im Jahre 1905, die Reiskäfer in enormen Mengen, insbesondere durch argentinischen Mais, eingeführt werden. Stift (Wien).

Referate.

Le Dantec, A., Note sur une nouvelle catégorie de microbes: les microbes chlorurophiles. (Comp. rend. heb. de la Soc. de Biol. T. LX. 1906. No. 26.)

Das Studium dieses Bacillus zeigt uns eine neue Gruppe von Bakterien, die nur in gesättigten Salzlösungen sich entwickeln. Der Bakteriengehalt des Meerwassers, dessen Salzgehalt zwischen 8 Promille und 9 Proz. schwankt, ist je nach der Salzaffinität der Bakterien verschieden. Zum Studium der betreffenden Bakterienfauna wird man den Salzgehalt der Nährböden nach dem Salzgehalt des betreffenden Meeresabschnittes bemessen müssen. Nur wenige von diesen Bakterienarten sind in der Lage, sich salzlosen Nährmedien anzupassen. In Analogie mit den bei Hitze wachsenden thermophilen Bakterien möchte der Autor diese Bakterien als chlorürophile bezeichnen.

Alfred Wolff-Eisner (Charlottenburg).

Le Dantec, A., Le microbe du rouge de morue. (Comp. rend. heb. de la Soc. de Biol. T. LX. 1906. No. 26.)

Beim Kabliau tritt nach dem Einsalzen unter Umständen ein Rotwerden des Fisches auf. Dieses Rotwerden ist auf einen Bacillus zurückzuführen, der 2—15 μ lang ist, bisweilen lange Fäden bildet, keine Sporen trägt und bei 68—70° abgetötet wird. Man kann ihn in einer Bouillon züchten, die 20 g Kabliau, 80 g Kochsalz und 200 g Wasser enthält. Der Bacillus ist meist von einigen Bakterien begleitet, die eine begünstigende Rolle für seine Entwickelung spielen. Der Bacillus ent-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wickelt sich nur in Kochsalzlösung, er verliert seine rote Farbe bei längerem Kontakt mit der Luft, stirbt aber dabei nicht ab. Der Bacillus stammt nicht, wie man annehmen könnte, aus dem Meerwasser, da dessen Salzgehalt nicht genügt, sondern aus dem Mittelmeersalz, das fast ausschließlich zum Einsalzen des Kabliaus benutzt wird. Durch Erhitzen des Salzes kann man die Erscheinung des Rotwerdens des Kabliaus verhindern. Dr. Alfred Wolff-Eisner (Charlottenburg).

Sforza, Claudio, Sulle cause d'inquinamento da microorganismi del brodo concentrato, che si prepara a Casaralta (Bologna) per il R. esercito e sul modo di evitarle. (Giornale Medico del R. Esercito. Aprile 1906.)

Die kurzen und summarischen Prüfungen, die Verf. angestellt hat, führen ihn zu der Schlußfolgerung:

1) Die konzentrierte Fleischbrühe kann von Mikroorganismen, besonders durch Fadenpilze (Hyphomyceten) verunreinigt werden, wenn die Glasbehälter, die zu ihrer Aufbewahrung dienen, nicht vollständig luftdicht geschlossen sind.

2) Um eine sichere Konservierung zu erzielen, müssen die Fläschchen an der Flamme geschlossen und dann deren fraktionierte Sterilisierung vorgenommen werden. Bertarelli (Turin).

Hahn, Gotthold, Ueber die in Frage kommenden Pilzarten bei der Pilzvergiftung in Gera am 19. August 1905. (46.—48. Jahresbericht der Gesellschaft von Freunden der Naturwissenschaften in Gera (Reuß) 1903—1905. p. 104—107. Gera 1906.)

Bei diesem Falle wurden außer anderen Pilzen als Ueberreste gefunden: Galorrheus pyrogalus Bull. (Brennreizker), Amanita pantherina DC. (Pantherpilz), ferner Galorrheus turpis Weinm. (Mordschwamm) und Russula nigricans Bull. (schwarzer Täubling). Der erste und die Oberhaut des zweiten Pilzes gelten als giftig, die anderen Pilze werden als ungenießbar bezeichnet. Es lag aber die Vermutung nahe, daß auch der gefährliche Giftknollenblätterpilz benutzt wurde. Man belegt nun 2 Arten mit diesem Namen: 1) eine weißliche Amanita mit ausgesprochenem Kartoffelgeruch, sie findet sich um Gera zeitlicher vor als die zweite Art, welche grünlich gefärbt ist, sich in manchem Jahr recht selten zeigt, aber immer an der dauerhaften Volva (die auch an alten Stücken nicht schwindet) von der erstgenannten Art sich unterscheidet, deren Volva vergänglicher, schuppig, ja häufig sogar gespalten und zerrissen ist. Die weißliche Art ist Amanita phalloides Mappa (synonym Am. Mappa Fries), die zweite ist Am. phalloides viridis (synonym Am. phalloides Fr., Am. bubbosus Bull., Am. verna Bull.). Erstere wird vom Laboratorium von Kobert in Rostock als nur in manchen Jahren giftig, die letztere als jederzeit stark giftig bezeichnet. Die letztere Art war wohl die Hauptursache beim Vergiftungsfalle. Die Vereinigung beider Pilze zu einer Stammart ist nicht haltbar. Verf. warnt noch vor dem Perlschwamme, dessen Oberhaut giftig ist, vor Galorrheus tominosus Schaeff. (Giftreizker) (hier 2 Vergiftungsfälle starker Art) und vor Scleroderma vulgare Fr. (Kartoffelbovist) (hier 3 Vergiftungsfälle bedenklicher Art). Der Giftreizker wurde in Gera in anderen Fällen ohne Bedenken aber verspeist; letztgenannten Pilz stellt Verf. aber zu den Giftpilzen sensu str. Matouschek (Reichenberg).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tirelli, E., I termofili delle acque potabili. (Riforma medica. 1907. No. 10. p. 265.)

Unter Verfolgung einer besonderen Technik hat Verf. aus verschiedenen Trinkwassern verschiedene Arten von thermophilen Keimen — und zwar 4 kugelförmige, 4 stäbchenförmige und 2 fadenförmige Arten — isoliert und dann gezüchtet.

Abgesehen von einem einzigen kugelförmigen Keim, der jenseits von 55° kein Wachstum mehr aufweist und dessen Entwickelungsoptimum zwischen 38° und 50° schwankte, bleiben alle übrigen Mikroorganismen bis zu einer Temperatur von 70° am Leben und bilden, auf diesem Punkte angelangt, Kolonieen, die ein graues oder gelblich-graues, feuchtes, glänzendes und fast gleichmäßiges Aussehen haben.

Im allgemeinen schwankt ihr Entwickelungsoptimum zwischen 55° und 65°, doch wachsen sie auch bei niedrigeren Temperaturen noch ziemlich gut, bei 37° dagegen wird ihr Wachstum schon sehr langsam. Alle diese Mikroorganismen sind Sporenbildner; bei Temperaturen unter 60°, sowie bei alten Kulturen verschwinden zumeist die typischen vegetativen Formen und an ihre Stelle treten fast ausschließlich die Sporenformen.

Einige lassen sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben sehr gut und gleichmäßig färben, andere dagegen weisen dabei große farblose Flecken auf (Sporen), und zwar im Zentrum oder an den Enden, und wieder andere erscheinen unter der Form von zahlreichen, runden, stark gefärbten Punkten auf wenig gefärbtem Grunde und bieten sozusagen eine rosenkranzartige Anordnung. Sie färben sich nach Gram und erzeugen kein Indol; die subkutane und intraperitoneale Inokulation führt bei den gewöhnlichen Versuchstieren stets zu negativem Erfolg.

Verf. behauptet nicht, bisher noch nicht beschriebene Keime isoliert, sondern einen Lebensabschnitt der gewöhnlichen Wasserkeime studiert zu haben.

Eigentümlich ist auf jeden Fall ihre Fähigkeit, selbst sehr hohen Temperaturen gegenüber stand zu halten, was man nicht so sehr einer Anpassung an die Verhältnisse der Umgebung als vielmehr einer besonderen chemischen Beschaffenheit ihres Protoplasmas zuschreiben muß.

Ceradini (Mailand).

Bokorny, Th., Die Kontaktwirkungen in der biologischen Chemie. Enzym und Plasma. (Chem. Ztg. 1907. Februar.)

Der Ausspruch C. Ludwigs: „Es dürfte leicht dahin kommen, daß die physiologische Chemie ein Teil der katalytischen würde“, scheint sich zu bewahrheiten. Denn es ist schon eine ganze Reihe von Reaktionen bekannt geworden, welche nicht bloß durch geformte und ungeformte Fermente, sondern auch durch die Kontaktwirkung fein verteilter Metalle, Oxyde und anderer poröser Körper und spezifischer Körper bewirkt werden. Unter Katalyse versteht man eine chemische Umwandlung, welche durch einen dritten Körper hervorgerufen wird, ohne daß dieser selbst in die chemische Reaktion eingreift.

Die Oxydation von Alkohol zu Essigsäure wird einerseits durch organische Fermente, so durch Mycoderma aceti oder Bacterium aceti, bewirkt, andererseits kann sie durch fein verteiltes Platin beschleunigt werden (letzteres nach E. Davy). Nach E. Buchner findet sich im Bacterium aceti ein besonderes Enzym, welches die Essiggärung bewirkt. Die zuerst bekannt gewordene katalytische Wirkung,

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Vereinigung von Wasserstoff und Sauerstoff bei Gegenwart von Platin, soll nach Th. Saussure auch verwesenden, also fermenthaltigen Stoffen zukommen. Interessant ist bei der Platinwirkung auf Knallgas noch besonders, daß letzteres, wenn es durch Schwefelkohlenstoff verunreinigt ist, nicht mehr katalysiert wird (Faraday). Man kann den Schwefelkohlenstoff in gewissem Sinne als Platingift bezeichnen, ebenso wie er als Gift für wirkliche Fermente gilt. Wahrscheinlich wirkt er sogar chemisch verändernd auf das Platin ein, indem er Schwefel an dasselbe abgibt, ähnlich wie Schwefelwasserstoff, der auch ein „Platingift" ist. Daß es sich bei Vergiftung wirklicher Fermente und des Protoplasmas auch um den Eintritt einer chemischen Verbindung zwischen Gift und Plasma handelt, hat Verf. durch wiederholte Experimentaluntersuchungen gezeigt [1]).

Der Zerfall von ameisensaurem Kalk in Calciumcarbonat, Kohlensäure und Wasserstoff wird nicht nur durch gewisse Bakterien, sondern auch durch fein verteiltes Iridium, Rhodium oder Ruthenium veranlaßt (Deville und Debray, Hoppe-Seyler). Die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxydes wird nach Schönbein durch Platinmohr ebenso beschleunigt wie durch rote Blutkörperchen. Daß in letzteren das Enzym Katalase, ein in beiden belebten Naturreichen weitverbreitetes Enzym, der wirksame Stoff ist, hat O. Loew vor einigen Jahren gezeigt; er ist der Entdecker dieses Fermentes, dessen Wirkung auf H_2O_2 so oft anderen Fermenten zugeschrieben wurde. Die Laccase beschleunigt die Oxydation des Pyrogallols, Platinsol ebenfalls (Bredig und Ikeda).

Die Uebereinstimmung zwischen anorganischen Katalysatoren und Fermenten dürfte aber keine allzu große sein, und manche Forscher begehen einen Fehler, wenn sie von „anorganischen Fermenten" sprechen. Vor allem ist hervorzuheben, daß es einen lebenden und toten Zustand bei anorganischen Fermenten nicht gibt, wenigstens nicht in dem eigentlichen Sinne des Wortes. Das anorganische Ferment kann zwar durch gewisse Gifte oder sonstige Einwirkungen unwirksam werden, ist aber wiederherstellbar. Schon Berzelius gibt an, daß unbrauchbar gewordenes Platin durch Eintauchen in Salpetersäure wieder katalytisch wirksam gemacht werden könne. Schlimmstenfalls löst man das Platin in Königswasser auf und fällt es von neuem durch Zink aus, oder man stellt Platinsalmiak her und glüht diesen. Ferner stimmen die Platingifte durchaus nicht mit denen für Fermente ganz überein. Alkohol ist für Platin kein Gift, während das Essiggärungsferment nicht mehr als 10 Proz. Alkohol verträgt. Für Fermente und Protoplasmen sind, wie O. Loew gezeigt hat, in erster Linie und ganz allgemein diejenigen Stoffe besonders giftig, welche mit Amidogruppen, ferner mit Aldehydgruppen und auch mit Ketongruppen (letztere nimmt O. Loew in Fermenten an) leicht reagieren; so hat sich gezeigt, daß Hydroxylamin, Phenylhydrazin, salpetrige Säure, Diamid starke Gifte sind. Daß im Eiweiß des lebenden Protoplasmas Amido- und Aldehydgruppen vorhanden sind, welche dem Komplex eine äußerst labile Beschaffenheit verleihen, schloß O. Loew schon im Jahre 1880 aus einer Eiweißbildungshypothese, die sich aus pflanzenphysiologischen Tatsachen ergab. Die Unterscheidung der Gifte in solche, die durch Salzbildung, durch Substitution, durch Oxydation wirken, hat natürlich nur dann einen Sinn, wenn die chemische Reaktion zwischen Gift und Katalysator wirk-

1) Pflüg. Arch. Bd. CXI. 1906. p. 341. Bd. CXIV. p. 535.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lich als faktisch eintretend angenommen werden kann, wie bei den Fermenten. Die „Platingifte" aber wirken oft noch bei so großer Verdünnung (1:1 Mill. oder 1:10 Mill. etc.), daß an den Eintritt der Reaktion mit dem so wenig reaktionsfähigen Platin nicht gedacht werden kann. Auch sind quantitative Beziehungen zwischen „Platingift" und Platinsol nicht nachgewiesen.

Da die Wirkung der schon länger bekannten physiologischen Katalysatoren, der Fermente, stets eine genau abgegrenzte ist, das Platin aber sowohl H_2 und O vereinigen als auch Alkohol zu Essigsäure oxydieren oder H_2O_2 in H_2O und O zu spalten vermag, so ist hierin auch eine Differenz zu konstatieren. Hingegen würde das Plasma (organisiertes Eiweiß) mehr dem Platin gleichen, da es mehrere Umwandlungen hervorzurufen vermag.

Oder gibt es vielleicht ebenso viele verschiedene Plasmen in der lebenden Zelle als verschiedene Funktionen?

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Atmung noch auf ein oder einige Enzyme zurückgeführt wird, die nicht extrahierbar sind und in ihren Existenzbedingungen nahezu, aber nicht ganz mit dem übrigen Plasma übereinstimmen; Anzeichen sind schon da, wonach das Aufhören der Atmung nicht ganz genau mit dem sonstigen Zelltode zusammenfällt.

Anders ist es mit dem Assimilationsplasma; dasselbe arbeitet nach den bisherigen Erfahrungen niemals über den Zelluntergang hinaus. Ja es kommt vor, daß sonstige Zellorgane ein längeres Leben zeigen als das Assimilationsplasma. Gemeint ist unter letzterem hier zunächst nur dasjenige Plasma, welches die allgemeinste und weittragendste Assimilation, die Assimilation der Kohlensäure, d. h. die Verwandlung dieser in Pflanzensubstanz bewirkt. Dasselbe ist in der Pflanzenzelle scharf abgesondert von dem übrigen Protoplasma; es ist immer vergesellschaftet mit dem Chlorophyllfarbstoff oder je nach den Lichtverhältnissen auch mit anderen Farbstoffen (nach den neuesten Forschungen von Engelmann, Stahl u. s. w. richtet sich dieser Farbstoff nach den Lichtstrahlen, welche in dem der Pflanze zum Aufenthalt dienenden Medium vorherrschen).

Die Kohlensäure-Assimilation wird von den Botanikern gegenwärtig als ein verhältnismäßig einfach und gleichmäßig verlaufender chemischer Prozeß aufgefaßt. Nach der Baeyerschen Hypothese, deren Richtigkeit kaum bezweifelt werden kann, wird die Kohlensäure durch einen Reduktionsvorgang zu CH_2O, dieser dann durch Kondensation sofort zu Hexose. Das erste sichtbare Assimilationsprodukt ist freilich meist Stärke, allein da Hexosen im Pflanzenkörper erfahrungsgemäß leicht in Stärke übergehen und neben Stärke in der Regel kleinere und größere Mengen von Zuckern vorkommen, so ist es naturgemäß, mit Schimper zuerst die Entstehung von Zucker anzunehmen. Immerhin sind zwei wesentlich verschiedene Vorgänge zu unterscheiden, ein Reduktionsvorgang, für den wohl ein besonderer Katalysator angenommen werden muß, und ein synthetischer Vorgang, bei dem $6\,CH_2O = C_6H_{12}O_6$ werden; auch letzterer ist ein besonderer katalytischer Prozeß, für den es in der Katalysen-Chemie manches Analogon gibt, so besonders die künstliche Synthese von Zucker aus Formaldehyd. Butlerow hat schon im Jahre 1861 durch Stehenlassen von Formaldehydlösungen mit Kalkhydrat einen den Zuckern nahestehenden Körper, das Methylenitan, gewonnen. O. Loew hat dann „Formose" hergestellt, indem er 3,5—4-proz. Form-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aldehydlösung mit etwas überschüssiger Kalkmilch unter häufigem Umschütteln eine halbe Stunde stehen ließ und filtrierte. Das mit $Ca(OH)_2$ nahezu oder ganz gesättigte Filtrat ließ er 5—6 Tage stehen, neutralisierte dann mit Oxalsäure und engte das Filtrat zum Sirup ein. Der gleichzeitig gebildete ameisensaure Kalk wurde mit Alkohol ausgefällt u. s. w.

Der Reduktionsvorgang, bei dem H_2CO_3 zu $H_2CO + O_2$ wird, konnte, soviel bekannt, bis jetzt durch keinen chemischen Katalysator zu Wege gebracht werden. Auch das lebende Plasma des Chlorophyllkorns ist für sich allein und unter bloßer Mitwirkung der Wärme nicht im stande, das zu bewirken; nur unter Zuhilfenahme des Lichtes, welches durch lichtabsorbierende Farbstoffe in dem Chlorophyllkorn zurückgehalten wird, kann jener Reduktionsprozeß ausgeführt werden.

Alle Versuche, die Kohlensäure-Assimilation mit Hilfe von Licht und Chlorophyllfarbstoff oder sonstigen Farbstoffen allein zu Wege zu bringen, ohne Mitwirkung des Katalysators Chloroplasma, sind gescheitert. In Gegenwart des lebenden Chlorophyllplasmas dagegen geht diese Umwandlung leicht von statten.

Wie kommt ferner die Eiweißbildung der Pflanzenzelle zu stande? Ist sie auch ein katalytischer Vorgang? Sind ein oder mehrere Katalysatoren dabei beteiligt?

Manche Forschung wird nötig sein, bis diese wichtigen Fragen gelöst sind. Autoreferat.

Bokorny, Th., Die „Bios"-Frage und die mineralische Ernährung der Hefe. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1907. 7. Febr.)

Die rätselhafte Substanz „Bios" soll nach Wildiers (1901) im Hefenwasser enthalten sein. Er wurde zu deren Annahme durch die Beobachtung veranlaßt, daß bei geringer Impfgabe in einer gezuckerten Mineralsalzlösung, die den Stickstoff in Form von Ammonsalzen enthielt, weder Hefevermehrung noch Gärung beobachtet werden kann. Mindestens 5 Tropfen einer Würzekultur von obergäriger Bierhefe oder 0,25 ccm einer Preßhefenaufschwemmung im 10fachen Wasservolumen war nötig, um Gärung hervorzurufen. Durch Zusatz von Hefenaufkochung (Hefenwasser) änderte sich die Sache; da genügten schon 2 Tropfen Impfgabe, um Wachstum und Gärung hervorzurufen.

Bios, die „lebengebende" Substanz, hat noch folgende Eigenschaften: 1) löslich in Wasser; 2) unlöslich in absolutem Alkohol und Aether, dagegen löslich in 80-proz. Alkohol; 3) nicht in der Hefenasche enthalten; 4) durch Kochen in 5-volumproz. Schwefelsäure nicht, wohl aber durch 20-proz. Schwefelsäure zerstörbar (Schwärzung); 5) durch Kochen mit 5-proz. Natronlauge zerstörbar; 6) durch Bleiacetat nicht fällbar (Phosphorwolframsäure, Quecksilberchlorid rufen nur schwachen Niederschlag hervor; das Filtrat ist als Bios noch sehr wirksam); 7) durch Pergamentpapier dialysierbar; 8) in Liebigs Fleischextrakt, Handelspeptonen und Gerstenmalzwürze enthalten; 9) bei der Vermehrung der Hefe nicht neu entstehend.

Im Grunde genommen ist es aber gar nicht so schwer, das Mißlingen der oben erwähnten Versuche auf natürlichem Wege ohne Bios zu erklären. Fürs erste muß man an die Giftwirkung des zu den Lösungen verwendeten, Spuren von Kupfer enthaltenden destillierten Wassers denken. Verf. hat, wie auch andere Forscher, schon wiederholt darauf aufmerksam gemacht, daß kleinste Mengen von Gift einzelne Hefenzellen oder sonstige Mikroorganismenzellen abzutöten im stande

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind, für eine größere Anzahl von solchen aber nicht ausreichen, da jede Giftwirkung eine quantitative chemische Reaktion ist. Liegen größere Quantitäten von Protoplasma vor, so reicht das Gift eben nur für einige Zellen aus, die anderen bleiben am Leben; oder das Gift greift alle Zellen gleichmäßig an, kann aber, wegen seiner geringen Quantität, keine wirklich abtöten; das Gift wird dann von den Zellen überwunden, sie leben weiter, als ob keine schädliche Einwirkung da wäre. Bedenklich ist bei dieser Erklärung nur die große Verdünnung, in welcher die giftigen Stoffe im destillierten Wasser vorhanden sind. Indessen ist für das Kupfer, das hier hauptsächlich in Betracht kommt, weil das Wasser aus kupfernen Destillierblasen destilliert wurde, nachgewiesen, daß dasselbe auf viele Mikroorganismen noch bei Verdünnung 1 : 1000000 giftig und tödlich wirken kann. Das oft beobachtete Absterben von Algen beim Einsetzen in destilliertes Wasser ist jedenfalls darauf zurückzuführen. Weiterhin ist es nicht ausgeschlossen, daß den bei Herstellung mineralischer Nährlösungen verwendeten Substanzen (Bittersalz, Calciumnitrat, Kaliumphosphat u. s. w.) kleine Mengen giftiger Substanzen beigemischt sind, welche gerade ausreichen, die in die Nährlösung eingesetzte Spur Hefe u. dergl. zu töten, aber nicht größere Mengen Hefe abzutöten im stande sind. Völlig reine Substanzen gibt es bekanntlich in der Chemie nicht, da jeder Stoff ursprünglich aus einem Gemenge verschiedener Stoffe herstammt und beim Reinigen (Auskristallisieren, Destillieren, Sublimieren u. s. w.) eine kleine Quantität des verunreinigenden Stoffes haften bleibt, die durch Wiederholung des Reinigungsverfahrens zwar immer mehr verringert, aber niemals ganz beseitigt werden kann. So sind z. B. Schwefelsäure und Salzsäure mehr oder weniger arsenhaltig; die Angabe „arsenfrei“ bedeutet nur, daß der Arsengehalt auf ein möglichst geringes Maß herabgedrückt wurde. Die Sulfate und Chloride, die daraus hergestellt wurden, enthalten natürlich auch Spuren davon. Calcium- und Magnesiumpräparate können durch Spuren giftiger Metallsalze verunreinigt sein.

Befinden sich nun in einer Nährlösung Proteide oder auch Kohlenhydrate und andere organische Stoffe in beträchtlicher Menge aufgelöst, so ist es sehr leicht möglich, daß durch diese die giftigen Substanzen im vorhinein gebunden werden und gar nicht zur Einwirkung auf die Zellen gelangen. Das ist die Anschauung, die sich dem Verf. auf Grund seiner Erfahrungen auf dem Gebiete der Hefenernährung sofort aufdrängte, als er von der merkwürdigen Biostheorie las.

Ueberblicken wir die Eigenschaften des „Bios“, die oben angeführt wurden, so stimmen dieselben so ziemlich auf Peptone. Sie sind in Wasser löslich, unlöslich in absolutem Alkohol, nicht in der Hefenasche enthalten, dialysierbar, in Fleischextrakt enthalten u. s. w. Daß dieselben im Hefenwasser vorkommen, ist bei dem häufigen Peptongehalte der Hefe erklärlich; sie bilden eine Art Reserveproteid in der lebenden Zelle und können durch Auskochen oder sonstiges Absterben der Hefenzellen in größerer Menge aus denselben herausgehen.

Da nun Peptone wie Proteide überhaupt sehr verbindungsfähig sind, so ist es sehr wohl möglich, daß dieselben kleine Mengen giftiger Beimengungen des Wassers und der Nährsalze gleichsam abfangen und so zum Schutze der lebenden Hefenzellen dienen. Jedenfalls muß die erstaunliche Meinung, daß es eine „lebengebende“ Substanz im Hefenwasser oder im Fleischextrakt oder im Handelspepton u. dergl. gebe, von vornherein, als ganz unvereinbar mit unseren Vorstellungen und

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erfahrungen über „Leben", zurückgewiesen werden. Denn Leben hat nur das Protoplasma, und Leben geben, wenn dieser Ausdruck überhaupt statthaft ist, kann nur das Protoplasma; es kann leblose Substanzen, wie Ammoniak etc., durch Assimilation in seinesgleichen verwandeln. Autoreferat.

Bréaudat, L., Sur un nouveau microbe producteur d'acétone. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XX. 1906.)

Verf. nennt diese neue Art Bacillus violarius acetonicus; er fand dieselbe im Trinkwasser in Saïgon (Cochinchina). Es ist ein kurzer, dicker Bacillus (1 $\mu \times 3 \mu$), welcher sich schnell bewegt und mit allen Anilinfarben gefärbt wird, wobei eine zentrale Partie hell bleibt, während die Farbenaufnahme an den beiden Enden eine sehr starke ist. Wird nicht nach Gram gefärbt. Die Beschreibung bezieht sich auf 3 Wochen alte Kulturen in Bouillon mit 1 Proz. Pepton. Die Art ist fakultativ aërob und entwickelt sich gut bei Temperaturen zwischen 30 und 37 °. Nach 6 Tagen werden runde Sporen gebildet. Die Kolonieen auf Peptongelatine sind violett; das Pigment bildet sich nicht ohne Luftzutritt und Pepton. In Peptonlösungen wird Aceton gebildet; auch Aethylalkohol und verschiedene flüchtige Säuren entwickelt dieser Bacillus.

Klöcker (Kopenhagen).

Purvis, J. E. and **Warwick, G. R.,** The influence of spectral colours on the sporulation of Saccharomyces. (Proc. of the Cambridge Philosophical Society. Vol. XIV. Pt. I. 1906.)

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß Gipsblöcke mit einer dünnen Schicht der betreffenden Hefeart in einer Schachtel angebracht wurden, in deren Seite ein Fenster sich befand. Dieses bestand entweder aus einer Glaszelle mit einer farbigen Flüssigkeit oder aus einer Glaszelle aus farbigem Glas und mit Wasser gefüllt. Die Schachteln wurden in einen Brutschrank bei 24—25 ° C eingestellt und eine Oellampe außerhalb der Glastür des Brutschranks gab das notwendige Licht. Die Versuche wurden mit den Arten Saccharomyces cerevisiae Hansen, Sacch. ellipsoideus Hansen, Sacch. intermedius Hansen, Sacch. turbidans Hansen und gewöhnlicher englischer Brauereihefe angestellt. Die Ergebnisse dieser Versuche wurden, daß 1) die roten Strahlen oder Strahlen mit geringer Brechung die Sporenbildung im Verhältnis zu dem weißen Lichte beschleunigen; sie scheinen auch die Sporenbildung im Verhältnis zum Dunkeln zu beschleunigen, obwohl in letzterem Falle die vollständige Entwickelung der Sporen dieselbe Zeit wie in dem roten Lichte in Anspruch nahm; 2) die grünen Strahlen scheinen die Sporenbildung zu verlangsamen; 3) die blauen und violetten Strahlen verlangsamen die Sporenbildung noch mehr als die grünen Strahlen; 4) die ultravioletten Strahlen wirken noch intensiver in dieser Beziehung und scheinen die Lebensfähigkeit der Zellen bei Einwirkung einiger Zeit herabzusetzen.

Die Verff. stellten auch ein Radiumsalz oberhalb der Gipsblockkulturen während 15, 30 und 60 Minuten sowie auch während 30 Stunden. Selbst nach einer Einwirkung von 15 Minuten wurden die Zellen mit Granula gefüllt und bekamen ein abgeschwächtes Aussehen. In allen Fällen starben sie: nach Aussaat in Würze kam keine Entwickelung.

Klöcker (Kopenhagen).

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ehrlich, Die chemischen Vorgänge bei der Hefegärung. (Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. 1906. Heft 611.)

Verf. bringt eine eingehende, mit reichlichen Literaturnachweisen versehene Zusammenstellung älterer und neuerer Arbeiten über die chemischen Vorgänge bei der Hefegärung. Besonders die mit Auffindung von Buchners Cymase sowie der Erklärung der Fuselölbildung zusammenhängenden Fragen werden des näheren besprochen. Auch die chemische Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure wird zulezt gestreift. Ehrenberg (Breslau).

Natan, L. und **Fuchs, W.,** Ueber die Beziehungen des Sauerstoffs und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und der Gärtätigkeit der Hefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1906. p. 226.)

Die Versuche wurden teils im Laboratorium, teils im großen unter der Verwendung der „Hansenaapparate" ausgeführt. Die Verff. gelangen zu folgenden Ergebnissen: 1) Reichliche Sauerstoffzufuhr übt keinen erweislich günstigen Einfluß auf die Gärtätigkeit aus. Sie regt nur die Sproßtätigkeit an. 2) Geringe Sauerstoffzufuhr kann in einer sauerstofffreien Nährlösung die Hefe zu neuer Gärtätigkeit anregen, ohne daß Sprossung beobachtet werden konnte. 3) Gleichmäßige, zweckentsprechende Bewegung der Nährflüssigkeit beschleunigt die Gärung durch Erzeugung großer Kontaktflächen zwischen Würze und Hefe und erzeugt eine vermehrte Menge gut genährter kräftiger Hefe. 4) Das von einer Nährlösung absorbierte Sauerstoffquantum ist ein Vielfaches der zur Vergärung nötigen Menge. 5) Es kann durch Verminderung der Lüftung bezw. der Sauerstoffabgabe der Nährflüssigkeit, die durch die Bewegung stärkere Vermehrung paralysiert und und auf der Normalen erhalten werden. Die Vergärung geht dann in kurzer Zeit ohne großen Extraktverlust vor sich. 6) Die bei der Gärung entstehende Kohlensäure ist im stande, die Sproßtätigkeit um ein geringes zu vermindern, dagegen hat sie keinen Einfluß auf die Gärtätigkeit der Zellen bei genügender Ernährung derselben. 7) Die Hefe stellt bei einer über eine Grenze hinausgehenden dauernden Erschütterung ihre Gärtätigkeit ein und stirbt ab. Häusler (Ludwigshafen).

Rubner, Max, Ueber spontane Wärmebildung in der Milch und die Milchsäuregärung. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. p. 244.)

Der energetische Umsatz in der Milch ist während der Wachstumszeit der Milchsäurebakterien gering im Vergleich zu der Wärmemenge, die nach der Gerinnung durch weitere innere Umwandlungen in der Milch entsteht. Der Milchsäuerung kommt nur eine untergeordnete Rolle in der Wärmeerzeugung zu; die Umwandelung des Milchzuckers deckt die vorhandene Wärmebildung nicht. Nun macht aber die Säurebildung weniger als die Hälfte des gesamten Energieumsatzes der Milchsäurebakterien aus und „die Milchsäuregärung stellt wohl eine äußerlich durch die Gerinnung sehr markante, aber quantitativ kaum so bedeutungsvolle Etappe in der Gesamtheit aller die Milch zersetzenden Vorgänge dar, als man bisher angenommen hat". Die Milchsäuregleichung stellt allein keine Gleichung für den Lebensprozeß der betreffenden Bakterien dar. Hirschbruch (Berlin).

Smidt, Henry, Ueber die sogenannte Reduktase der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. LVIII. p. 313.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Rohe Milch wirkt reduzierend: feinverteilter Schwefel wird zu Schwefelwasserstoff; Indigo, Lackmus, Methylenblau werden in die farblosen Leukoprodukte umgewandelt.

Schardinger hat zwei Reagentien hergestellt: 1) Formalin 5 ccm, gesättigte alkoholische Methylenblaulösung 5 ccm, Aqua destillata 190 ccm. 2) Gesättigte alkoholische Methylenblaulösung 5 ccm. Aqua destillata 195. Der zu untersuchenden Milch hat er die Reagentien im Verhältnis 1:20 zugesetzt. Bei 40—45° C entfärben innerhalb 10 Minuten Milchproben das Reagens 1, wenn es sich um frische, rohe Milch handelt; ältere Milchproben entfärben beide Reagentien; gekochte Milch entfärbt keine.

Nach den Autoren soll die Reduktion durch Milch durch die Anwesenheit eines in ihr enthaltenen Ferments, der sogenannten „Reduktase“ bedingt sein; außerdem wird die Bakterienwirkung für die Reduktion in Anspruch genommen.

S. kommt zu dem Ergebnis, daß die Entfärbung einer verdünnten Methylenblaulösung ohne weiteren Zusatz durch rohe Milch stets Folge von Bakterienwirkung ist. Da nun frische rohe Milch die Formalin enthaltende Methylenblaulösung entfärbt, dieselbe Lösung ohne Formalin aber nicht entfärbt, nimmt S. in der Milch eine — durch Erhitzen auf 75—80° zerstörbare — auf Formalin als Katalysator wirkende Substanz an, die er als „Aldehydkatalase“ bezeichnet. Die Existenz einer Reduktase in der Milch leugnet S. Jede Reduktion ohne Aldehydanwesenheit ist lediglich Bakterienwirkung und zwar ist der Grad der Bakterienwirkung, also der Reduktion, proportional der Bakterienzahl. S. nimmt an, daß das Methylenblau unter Umwandlung des Aldehyds in Ameisensäure reduziert wird.

Die Aldehydkatalase ist mit der Superoxydase nicht identisch (Spaltung von H_2O_2), weil beide zwar beim Zentrifugieren in den Rahm übergehen, die Katalase aber daraus wieder durch Wasser oder physiologische Kochsalzlösung entfernt werden kann, was mit der Superoxydase nicht möglich ist. Außerdem wirkt Frauenmilch schwächer katalytich auf Aldehyd als Kuhmilch, während sie H_2O_2 kräftiger spaltet. Schließlich ist die Aldehydkatalase im Gegensatz zu der Superoxydase nach Seligmann sehr empfindlich gegen Milchsäure.

Hirschbruch (Berlin).

Sawamura, On the micro-organismus of Natto. (Bulletin of the College of Agriculture. Tokyo. Vol. VII. No. 1. p. 107.)

Natto ist eine Art vegetabilischen Käses, welcher aus gekochten Soyabohnen durch Gärung gewonnen wird. Aus dem natürlich höchst bakterienreichen Produkte wurden seinerzeit durch Yabe 4 Mikroorganismen isoliert, welche verschiedene Farbstoffe resp. fluoreszierende Körper erzeugten, doch waren die weiteren Gärungsverhältuisse wenig geklärt. Die Verfolgung der Gärung machte sich der Verf. zur Aufgabe.

Im Anfang des Gärungsprozesses bestand die Flora des Natto vorwiegend aus Bacillen, während nach einiger Zeit Mikrokokken das Uebergewicht erlangten. Von beiden Gruppen wurden verschiedene Arten isoliert und ihr Verhalten auf sterilisierter Soyabohne beobachtet; des weiteren zum Vergleich das Verhalten von Bac. mesentericus vulgatus, fuscus, subtilis, Bacterium filiforme und B. thyrothrix filiform. Das Wachstum aller Arten war befriedigend, doch stellte es sich heraus, daß nur zwei aus dem echten Natto isolierte Organismen, als Bac. I und II bezeichnet, und zwar in symbiotischer Tätig-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keit zur Hervorbringung eines dem Nattokäse entsprechenden Produktes befähigt sind, und dementsprechend als die eigentlichen charakteristischen Organismen des Natto betrachtet werden müssen.

Die Charakteristika der beiden Arten waren kurz folgende:

Bac. I erreichte bei 30 Grad im Brutschranke eine Dicke von 1 μ bei 3—4 μ Länge, mit abgerundeten Enden. Die Stäbchen schlossen sich oft zu langen Fäden zusammen und waren in der Jugend beweglich, Sporen mittelständig, Gramfärbung positiv, fakultativ aërob. Gelatine wird verflüssigt, auf Agar trockener, hellbrauner Belag. Die Reaktion auf Schwefelwasserstoff, Indol und Gas negativ. Der Organismus ähnelt etwas dem Bac. mesentericus. Der Verf. schlägt für ihn die Artbezeichnung Bac. Natto vor. — Bac. II hat große Aehnlichkeit mit I, ist aber weniger beweglich. Auf Gelatine, die schnell verflüssigt wird, bildet er kleine weiße Kolonieen, desgleichen auf Agarplatten. In Agarstrich und -stich hellbraune Kolonieen. Es handelt sich offenbar um eine Varietät von Bac. mesentericus vulgatus. Beide Bakterien produzieren ein proteolytisches Enzym, No. II außerdem ein diastatisches Enzym, was vielleicht für die gute, Verdauung fördernde Wirkung des Nattokäses zur Erklärung beiträgt.

Vageler (Königsberg i. Pr.).

Guerbet, M., Notes sur la fermentation du Yoghurt. (Compt. rend. hebdomad. des séanc. de la Société de Biologie. T. LX. 1906. p. 495.)

Verf. fand in der als Yoghurt bezeichneten Sauermilch eine ähnliche Mikrobenflora, wie Rist und Khoury im ägyptischen Leben. Die Pariser Yoghurtproben enthielten Streptobacillus Lebenis, Bac. Lebenis, Diplococcus Lebenis, Saccharomyces und Mycoderma Lebenis, und zwar eine Probe alle genannten 5 Mikroben und 2 andere Proben nur Streptobacillen und Diplokokken. Die vom Verf. selbst durch Vergärung bei 45° C innerhalb von 5—6 Stunden hergestellten Yoghurte wiesen in einem Falle (I) sämtliche 5 Mikroben auf, in weiteren Fällen nur Saccharomyces Lebenis und Bacillus Lebenis (II) und nur Streptobacillen (III). Die Analysen der genannten selbst hergestellten Yoghurte und von 2 gekauften Proben, die ebenfalls die 5 Mikroorganismen (IV) und einmal Diplokokken und Streptobacillen (V) enthielten, ergaben folgende Befunde:

		I	II	III	IV	V
Milchsäure	Proz.	0,34	0,41	0,38	0,56	0,48
Flüchtige Säure	„	0,011	0,021	0,017	0,012	0,019
Alkohol	„	0,012	0,019	0,016	0,017	0,023
Aldehyd	„	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur

Aus den Untersuchungen des Verf. ergibt sich, daß

1) der im Yoghurt entstandene Alkohol bacillären Ursprunges ist, und

2) die Streptobacillen genügen, um die Milch in Yoghurt zu vergären.

Fuhrmann (Graz).

Pantanelli, E., Vinificazione al bisolfito e fermento puro del Lambrusco. (Stazioni sperimentali agrarie. Vol. XXXIX. 1906. p. 543—589.)

Es wurden Gärungsversuche des Lambruscoweines, eines wohlbekannten, roten, natürlichen Schaumweines von Modena, mit einer aus-

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelesenen Lambruscohefe und mit oder ohne Zusatz von Kaliumbisulfit in verschiedener Konzentration (10—20 g pro hl) ausgeführt. Die Hefe war durch mitridatische Behandlung an eine Bisulfitkonzentration von 16 g pro hl angepaßt worden. Von sieben Lambruscohefen verschiedener Herkunft wurde das kulturelle und gärungsphysiologische Verhalten untersucht, ehe man zur Auslese der angewandten Sorbararasse schritt.

Mit Reinhefe und Bisulfit vergorene Lambruscoweine enthalten im Vergleich zu natürlich vergorenen mehr Alkohol, fixe Säure, Extrakt und Gerbstoff, weniger flüchtige Säure, Weinstein und Glycerin. Die Asche ist alkalireicher als in den Kontrollweinen. Im ganzen vollzieht sich die Gärung viel besser; der Wein ist klarer, farben- und schaumreicher; der Bodensatz enthält keine oder spärliche Bakterien. Das Urteil des Publikums über die mit verschiedener Technik gegorenen Weine war den Bisulfitweinen besonders günstig.

Verf. gibt als Schluß seiner Arbeit das praktische Kellerverfahren genau an. Für die lokalen Verhältnisse (feuchte und kalte Kelterungszeit) soll eine Dosis von 5 g $KHSO_3$ pro kg Trauben (= etwa 10 g pro hl Most) die günstigste sein. E. Pantanelli (Rom).

Rossi, G. e Guarnieri, F., Contributo a lo studio della formazione dell' humus. (Archivio di Farmacologia sperimentale. V. 1906. 22 pp.)

Zur Verfolgung seiner Studien über Zersetzung vegetabilischer Reste untersuchte Verf. die Wirkung von 25 Bakterienarten auf tote Blätter verschiedener Pflanzen in sterilem Sande, Wasser und Fleischbrühe. Die erste Folge der Bakterienwirkung ist die Gewebelockerung und Trennung der Elemente (Parenchym, Sklerenchym, Cuticula). Damit hört die Zersetzung auf, wenn man keine cellulosezerstörenden Organismen eingreifen läßt. E. Pantanelli (Rom).

Perotti, E., Sopra la forma italiana del Nitrosomonas europaea. (Rendiconti Lincei. Vol. XV. Roma 1906. p. 512—516.)

Nachdem Verf. (1905) in dem Boden Roms eine Varietät von Nitrosomonas festgestellt hatte, welche mit Winogradskys asiatica (Java) große Analogie aufwies, unternahm er es, Bodenproben aus verschiedenen Gegenden Italiens zu analysieren. Die Proben wurden in sterilisierten Sammelgläsern sofort verschlossen und in vorbereitete Kulturmedien gegeben. Letztere wurden vornehmlich mit Omelianskis Nährflüssigkeit bereitet, nämlich mit 2 Teilen Ammonsulfat, 2 Teilen Kochsalz, 1 Teil Kaliumphosphat, 0,5 Magnesiumsulfat, 0,4 Eisensulfat in 1 Liter Wasser. Die Selektionskulturen führten zur Isolierung einer Form, welche Verf. als besondere var. italica (Perotti) des Nitrosomonas europaea Winogradsky auffaßt. Dieselbe hat Kokkenform von 0,6—0,8 μ Durchmesser und mit Uebergangsformen zu Bakterien. Jedes Individuum ist mit einem Geißelfaden von ungefähr gleicher Länge versehen. Diese Mikroorganismen entwickeln sich in Nährsubstraten mit organischen Stoffen nicht; aus Ammoniaksalzen entwickeln sie salpetrige Säure. Solla (Pola).

Ulpiani, C., Evoluzione chimica e biochimica della calciocianamide nel terreno agrario. (Rendiconti d. Società Chimica di Roma. IV. 1906. 16 pp.)

Nach Verf. gibt Kalkstickstoff im Boden zunächst Cyanamidokarbon-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

säure, welche mit dem Bodenkalk Verbindungen eingeht und in $CaCO_3$ und freien Cyanamid ebensowohl in feuchter wie in trockener Umgebung übergeht. Cyanamid polymerisiert sich beim Verdampfen konzentrierter Lösungen zu Dicyandiamid, welche allein Bakterienwachstum und -tätigkeit unterhalten kann. Daher empfiehlt Verf. das Ausstreuen des Kalkstickstoffes bei trockenem Wetter vorzunehmen.

E. Pantanelli (Rom).

von Bazarewski, Beiträge zur Kenntnis der Nitrifikation und Denitrifikation im Boden. Inaug.-Dissertation [Göttingen] 1906.

Nach einer kurzen Einleitung gibt Verf. zunächst eine Darstellung seiner Versuche über den Einfluß der Temperatur auf die Nitrifikation, aus denen er schließt, daß das Optimum für diesen Vorgang im Boden den Graden 25—27 sehr nahe kommen dürfte, nie aber bei 37° liegt, wie es nach den älteren Angaben von Schloesing und Müntz der Fall sein soll.

Bezüglich der Verteilung der Nitrifikationsbakterien im Boden kann Verf. die Ergebnisse der älteren Untersuchungen von Warrington und Nigula bestätigen. Es scheint jedoch, als ob die Gründüngung mit Senf in tieferen Bodenschichten die Tätigkeit der nitrifizierenden Mikroorganismen zu begünstigen vermag. Aehnlich wirkten Leguminosen.

Weiter findet Verf., wie auch Müntz und Laine, daß lösliche organische Substanz sicher günstig auf die Tätigkeit der nitrifizierenden Bakterien wirkt. Die Art und Weise dieses Vorganges bleibt noch unklar, er ändert sich bei mehr als ca. 1 Proz. organischer Substanz ins Gegenteil. Entsprechende Versuche über Denitrifikation ergaben, daß die Optimalwärme zwischen 30 und 20° zu liegen scheint, und daß die Denitrifikationsmikroben selten in einer Tiefe von 50 cm vorkommen, indes im Boden ungleichmäßig verbreitet sind; jedenfalls sind sie in den obersten Bodenschichten am meisten verbreitet, Gründüngung begünstigt scheinbar auch sie. Zum Schluß bringt Verf. einige Mitteilungen über die Methodik der Salpetersäurebestimmung im Boden, um die wegen des von ihm angewandten Untersuchungsverfahrens auftauchenden Bedenken, es kann dabei leicht infolge von Denitrifikation zu wenig Salpeter gefunden worden sein, zu zerstreuen; er kann hierbei auch darauf hinweisen, daß Anwendung einer besseren Methode seine Resultate zum Teil zu bestätigen vermochte. Ehrenberg (Breslau).

Ehrenberg, Die Bewegung des Ammoniakstickstoffs in der Natur. (Mitteilungen der Landwirtschaftlichen Institute der Universität Breslau. Bd. IV. Heft 1 und 2.)

Die vorliegende Abhandlung bringt eine ziemlich umfassende Darstellung der sämtlichen „Ammoniakfragen", soweit sie nicht nur rein chemisches oder industrielles Interesse haben. Hier seien nur die an diesem Orte erwähnenswerten Teile der Arbeit hervorgehoben:

Bezüglich des Stickstoffverlustes bei der Nitrifikation wird nach eingehender Berücksichtigung der für diese Spezialfrage bedeutungsvollen früheren Arbeiten die Ansicht vertreten, daß im natürlichen, normal mit Ammoniumsalz versehenen Ackerboden bei Nitrifikation kein Stickstoffverlust eintreten wird. Steigt die Ammoniakgabe jedoch über eine gewisse Höhe, oder tritt Störung der Sauerstoffzufuhr ein, beides Fälle, die in praxi kaum so leicht vorkommen dürften, so

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird Nitritanhäufung und Stickstoffverlust die Folge sein. — Anders geartete Versuchsergebnisse früherer Forscher werden zum Teil durch Analysenschwierigkeiten, aber auch dadurch erklärt, daß meist stärker getrockneter Erdboden Verwendung fand, in welchem die Nitrifikationsmikroben abgeschwächt vorhanden waren, so daß, zumal auch anderweitige Schädigungen nicht fehlten, leicht Nitritanhäufung mit dem in ihrem Gefolge befindlichen Freiwerden von Stickstoff eintreten konnte.

Die im Anschluß hieran durchgeführte experimentelle Prüfung der Frage ergab insofern eine Bestätigung der oben vertretenen Anschauungen, als es sich je nach den willkürlich zu ändernden Bedingungen möglich zeigte, bald starke Nitrifikation ohne Stickstoffverluste durchzuführen, bald dieselben bei wesentlich schwächerer Nitrifikation hervorzurufen.

Diese Versuche führen dann noch weiter zu dem Schluß, daß je nach den Bedingungen im Boden, die nicht nur mit der verschiedenen Bodenart, mit der Düngung, mit der Vorfrucht und vielerlei anderen Umständen, sondern gewiß auch mit der Jahreswitterung wechseln können, die Menge des Ammoniaks, das den Bodenmikroben festlegender Art entgehen und Verwandlung in Salpeter finden kann, sehr wechseln wird. Auf Grund einer Versuchsreihe hierfür ein festes Verhältnis einführen zu wollen, ist durchaus unmöglich.

Weiter wird die biologische Bindung des Ammoniaks im Boden durch niedere Organismen besprochen und besonders versucht, auf Grund der für die vorliegende Frage äußerst wichtigen Untersuchungen Falcks die Bedeutung der Bodenpilze in das richtige Licht zu stellen, wobei an einer größeren Vegetationsgefäßreihe auf Grund dieser Annahmen ein abgeschlossener Erklärungsversuch gemacht wird. Es ergibt sich, daß für die Ammoniakfestlegung wahrscheinlich den Bodenpilzen eine weitaus wichtigere Rolle zuerkannt werden muß, als den Bodenbakterien. Die Bedeutung der Bodenpilze für die Stickstofffestlegung in Eiweißform, wie der Umfang dieser Festlegung im Kreislaufe des Stickstoffs, ist außerordentlich hoch zu veranschlagen; vielleicht kommen wir noch dazu als Träger der sogenannten „alten Kraft" des Landes überhaupt die Bodenpilze zu erkennen.

Sehr eingehend wird endlich die Frage nach der Aufnahme des Ammoniaks durch die höheren Pflanzen und der Wichtigkeit der Nitrifikation für dieselben behandelt. Obwohl die Möglichkeit der Aufnahme kleinerer Ammoniakmengen zugegeben wird, bleibt doch der Schluß aus einer umfangreichen Versuchsreihe der, daß für die gewöhnlichen höheren Pflanzen unseres Ackerlandes die Salpetersäure allein geeignet ist, eine nutzbringende Ernährung zu gewährleisten. Die Bedeutung der Nitrifikation wird noch dadurch erhöht, daß sie Ammoniakverdunstungsverlusten mit Erfolg entgegenzuwirken geeignet ist. Die Ammoniakaufnahme durch höhere Pflanzen spielt wohl für die Bewegung des Ammoniaks in der Natur nur bei säureliebenden, besonders bei Sumpfpflanzen eine Rolle.

Als Nebenergebnis der erwähnten Versuche wird auf die Unbrauchbarkeit von Vegetationsversuchen zur Lösung der Frage der Ammoniakverdunstung aus Ackerboden hingewiesen.

In einem weiteren Kapitel wird die Bedeutung der Ammoniakverdunstung für die Selbstreinigung der Flüsse angezweifelt, dagegen Beweismaterial für die Wichtigkeit der in dieser Richtung arbeitenden Mikroflora und Fauna beigebracht. Autorreferat.

Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Hornberger, Nochmals Streu und Stickstoff. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1906. Heft 12.)

Verf. bringt in Verfolg seiner in Bd. XIV. p. 423 dieser Zeitschrift referierten, früheren Versuche weitere Feststellungen. Diesmal wurde zur Prüfung der Frage, ob eine Stickstoffbindung in abgestorbenen Blättern nachzuweisen sei, genau nach Henrys Vorschrift nur das Laub junger Bäume verwendet, während bei den früheren, gegen eine Stickstoffbindung sprechenden Versuchen des Verf. ohne bestimmte Auswahl die Blätter von Bäumen meist mittleren Alters zur Verwendung gekommen waren. Die Ergebnisse waren die folgenden:

Verf. schließt aus diesen Zahlen: „Jedenfalls ist es nun sicher, daß Waldstreu unter günstigen Umständen tatsächlich eine ansehnliche Erhöhung ihres absoluten Stickstoffgehaltes erfahren kann, die von Bindung freien, atmosphärischen Stickstoffs herrühren muß.“

Beschickung[1])	Vorher (im Kasten)	Nachher (im Kasten)	in Sickerwasser g N.	Im ganzen abzügl. des Niederschlags-stickstoffs g N.	Gewinn bezw. Verlust an Stickstoff g	Gewinn bezw. Verlust an Stickstoff in Proz. der Trocken-substanz	Verlust an Trocken-substanz Proz.
1 junge Eiche (mit Stein)	90 g lufttr. = 80,127 g trocken, darin 0,975 Proz. = 0,781 g Stickstoff	72,316 g lufttr. = 66,943 g trocken, darin 1,279 Proz. = 0,856 g Stickstoff	0,0268	0,856	+ 0,075	+ 0,094	16,45
2 junge Hainbuche (mit Stein)	78 g lufttr. = 68.952 g trocken, darin 1,361 Proz. = 0,938 g Stickstoff	55,688 g lufttr. = 49,273 g trocken, darin 2,057 Proz. = 1,013 g Stickstoff	0,0267	1,013	+ 0,075	+ 0,109	28,54
3 junge Hainbuche (ohne Stein)	78 g lufttr. = 68,952 g trocken, darin 1,361 Proz. = 0,938 g Stickstoff	52,259 g lufttr. = 48,193 g trocken, darin 2,092 Proz. = 1,008 g Stickstoff	0,0362	1,017	+ 0,079	+ 0,117	30,11
4 ohne Laub (mit Stein)	—	—	0,0272	—	—	—	-
5 junge Eiche (mit Stein)	97 g lufttr. = 86,359 g trocken, darin 0,975 Proz. = 0,842 g Stickstoff	62,318 g lufttr. = 55,426 g trocken. darin 1,506 Proz. = 0,835 g Stickstoff	—	0,835	— 0,007	— 0,008	35,82
6 alte Eiche (mit Stein)	99,45 g lufttr. = 86,381 g trocken, darin 0,758 Proz. = 0,670 g Stickstoff	69,792 g lufttr. = 62,115 g trocken, darin 1,117 Proz. = 0,694 g Stickstoff	—	0,694	+ 0,024	+ 0,027	29,72
7 junge Hainbuche (mit Stein)	78 g lufttr. = 68,952 g trocken, darin 1,361 Proz. = 0,938 g Stickstoff	38,864 g lufttr. = 35,603 g trocken, darin 2,394 Proz. = 0,852 g Stickstoff	—	0,852	— 0,086	— 0,125	48,37
8 junge Hainbuche (ohne Stein)	78 g lufttr. = 68,952 g trocken, darin 1,361 Proz. = 0,938 g Stickstoff	45,580 g lufttr. = 39,864 g trocken, darin 2,498 Proz. = 0,996 g Stickstoff	—	0.996	+ 0,058	+ 0,084	42,19

(Abgesehen davon, daß von den gesamten Versuchen des Verf. bisher nur 28 Proz. einen Stickstoffgewinn, die übrigen aber Stickstoffver-

1) No. I—IV mit Sammeltrichter und beschränktem Niederschlag.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

luste aufzuweisen hatten, sei darauf hingewiesen, daß die vom Verf. erreichte Genauigkeit bei der Analyse für so feine Unterschiede, wie sie hier in Frage kommen, kaum ausreichen dürfte. Es betrug z. B. bei den ein Stickstoffplus ergebenden Versuchen 1 und 3: die sich aus der Verschiedenheit der Stickstoffparallelbestimmungen ergebende Differenz für den Stickstoffgehalt des Ausgangsmaterials in Gramm Stickstoff 0,052 für 1, 0,035 für 3; der Minimalunterschied zwischen dem aus je einer Stickstoffbestimmung berechneten Anfangs- und Endstickstoffgehalt in Gramm Stickstoff 0,034 für 1, 0,044 für 3.)

Ehrenberg (Breslau).

Stutzer, Beobachtungen über die Wirkung von Nitrit und von Impferde auf Sojabohnen. (Journ. f. Landwirtschaft. Bd. LV. 1907. Heft 1/2.)

Verf. stellte Versuche mit zwei verschiedenen Varietäten der Sojabohne an, welche in der gewöhnlichen, von ihm benutzten ostpreußischen Erde Knöllchen nicht zu bilden vermochten. Impfung mit ziemlich ausgetrockneter Japanerde, die Sojabohnen getragen hatte, ergab wohl wegen der Trockenschädigung nur spärliche Knöllchenbildung. Im darauf folgenden Jahr entwickelten die Pflanzen aber auf dieser Erde starken Knöllchenansatz. Besser wirkte eine in hinreichend feuchtem Zustande eingetroffene Probe von einem mandschurischen Sojabohnenfelde.

Düngung mit Nitrit zu Sojabohnen vermochte im Gegensatz zu den vom gleichen Verf. bei Rotklee beobachteten Wirkungen keine schädliche Wirkung auszulösen, die Pflanzen entwickelten sich vielmehr üppig.

Ehrenberg (Breslau).

Stutzer, Untersuchungen über die Wirkung sehr hoher Gaben von schwefelsaurem Ammoniak bei Gegenwart von organischen Substanzen und von kohlensaurem Kalk im Boden. (Journ. f. Landwirtschaft. Bd. LV. 1907. Heft 1/2.)

Aus der vom Verf. mitgeteilten Versuchsreihe ist hervorzuheben, daß aus derselben einmal die bereits bekannte, ertragsschädigende Wirkung einer Strohhäckselgabe zu Stickstoffdünger, in diesem Fall schwefelsaurem Ammoniak, hervorgeht. Inwieweit es sich hier um biologische Stickstofffestlegung oder andere Prozesse handelt, erörtert Verf. nicht weiter. Dann ist aus dem Versuche eine ungünstige Einwirkung von kohlensaurem Kalk auf Buchweizen zu entnehmen, wie ferner die Tatsache, daß durch Mikroorganismen, zeolithartige Mineralien oder organische Bodenbestandteile festgelegter Ammoniakstickstoff unter dem Einfluß einer Gabe kohlensauren Kalkes für die Nachfrucht vermehrt aufnahmefähig wird. (Ein näheres Eingehen auf diese in allgemeiner Hinsicht ja nicht unbekannte Tatsache ist unterblieben. Die Arbeit läßt weiter Mitteilungen der Einzelerntezahlen vermissen.)

Ehrenberg (Breslau).

Schulze, Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwickelung der Pflanzen. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LXV. p. 137.)

Verf. führte seine Untersuchungen unter Anwendung verschiedener Bodenarten und mit Hafer, Senf, Erbsen, Buchweizen und Gräsern als Versuchspflanzen in Vegetationsgefäßen aus. Aus dem Verhalten des Hafers ergab sich, daß in den untersuchten 3 Bodenarten beim Sterili-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sieren in ganz verschiedenem Grade Giftstoffe entstehen; am ungünstigsten verhielt sich der Wiesenboden, es folgte der Ackerboden und am günstigsten war das Ergebnis beim Gartenboden. Sehr empfindlich gegen die bei der Bodensterilisation entstehenden Produkte war der Senf. Wiesen- und Ackerboden unterschieden sich allerdings nicht so scharf in ihrem Verhalten gegen diese Pflanze, sehr deutlich trat aber der günstige Einfluß des sterilisierten Gartenbodens in die Erscheinung.

Die auch bei den übrigen Versuchspflanzen beim Wachstum in erhitzt gewesenem Boden unter Umständen auftretenden Schädigungen machten sich im allgemeinen durch Gelbwerden und Absterben der Blätter bemerkbar. Durch eine gleichzeitige Kalkgabe konnte die Wirkung der entstandenen Giftstoffe aufgehoben und der Ernteertrag ganz erheblich gesteigert werden.

Die Art der Sterilisation (1 Stunde bei 125° C oder 18 Stunden bei 100° C) beeinflußte die Resultate nicht in ausgesprochener Weise. Die Versuche gaben auch keine bündige Antwort auf die Frage, ob die Sterilisation von Einfluß auf die als Düngung gegebenen Nährsalze selbst ist.

Die Stickstoffaufnahme durch die Pflanzen wurde durch die Bodensterilisation fast ausnahmslos derart gesteigert, daß sonstige Unterschiede in den Stickstofferträgen nicht mehr hervortraten. Auch da, wo die Trockensubstanzmengen infolge der Sterilisation gesunken waren, sind meist erhebliche Mehrernten an Stickstoff gegenüber den nicht sterilisierten Gefäßen zu verzeichnen. „Es ist fast überall eine ganz auffallende Luxuxkonsumtion an Stickstoff festzustellen."

Es hat sich also gezeigt, daß durch die Bodensterilisation unter Umständen schädlich wirkende Zersetzungsprodukte entstehen können, daß diesem ungünstigen Faktor jedoch die durch das Erhitzen bewirkte Aufschließung der Bodennährstoffe, besonders des Stickstoffs, gegenübersteht. Das endgültige Resultat kann von diesen sich entgegenwirkenden Faktoren in ganz verschiedener Weise beeinflußt werden.

Vogel (Bromberg).

Koch u. Lüken, Ueber die Veränderung eines leichten Sandbodens durch Sterilisation. (Journal für Landwirtschaft. 1907. Heft 1/2.)

Aus der Abhandlung ist zunächst hervorzuheben, daß durch Sterilisation, 2 Stunden bei 2 Atmosphären Ueberdruck, aus einem stickstoffarmen hellen Sandboden sehr erhebliche Stickstoffmengen für die Pflanzen verfügbar wurden. Die Verff. führen dies auf die gleichen Umstände zurück, wie seinerzeit Richter (Versuchsstationen. Bd. XLVII. p. 269), also auf Aufschließung organischer Stickstoffsubstanz des Bodens, und sprechen die Ueberzeugung aus, daß man auf diese Tatsachen auch bei Verwendung ganz leichter Sandböden sein Augenmerk richten müsse, wenn man nicht bei bodenbakteriologischen Versuchen mit sterilisierten Böden zu empfindlichen Trugschlüssen verleitet werden wolle.

Bezüglich der Sterilisation von Boden in Zinkgefäßen geht aus der hier vorliegenden Arbeit weiterhin hervor, daß das Metall hierbei kaum schädigend einwirken dürfte. Beobachtete Nachteile wiederholten sich auch, nachdem Tongefäße angewendet wurden; dagegen ließ sich durch anderweitige optimale Lebensbedingungen ein sichtbarer Einfluß der noch unbekannten Sterilisationsschädigungen vermeiden.

Es folgen endlich noch kurze Mitteilungen über Strohschädigung

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im Erdboden, welche nach der Richtung hindeuten, daß hierbei auch die bereits andererseits herangezogene Wirkung der Zersetzungsprodukte des Strohes Beachtung verdient. Ehrenberg (Breslau).

Hollrung, Ueber die Steigerung der Rübenerträge durch Anwendung von Reizmitteln. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1906. p. 276.)

Reizwirkungen, welche die Qualität oder Quantität des Pflanzenertrages günstig beeinflussen, können entweder durch Zuführung bestimmter chemischer Stoffe oder durch die Einwirkung elektrischer Ströme hervorgebracht werden. So wird der bekannte günstige Einfluß einer Schwefelkohlenstoffbehandlung des Bodens auf das Wachstum der nachfolgenden Pflanzen außer durch Auslösung bestimmter biologischer Vorgänge auch als reine Reizwirkung erklärt. Angeregt durch die neuerdings von Loew u. A. gemachte Beobachtung, daß gewisse sonst giftig wirkende Stoffe in sehr starker Verdünnung auffallende Produktionssteigerungen bei manchen Kulturpflanzen hervorrufen können, hat Verf. das Verhalten der Zuckerrübe gegen sehr schwache Jodkalium- und Fluornatriumlösungen untersucht. Die Anwendung 0,001-proz. Lösungen dieser Salze brachte jedoch keinerlei Erfolg.

Günstigere Resultate, besonders hinsichtlich der Qualität der Rüben, wurden bei Anwendung der Elektrizität als Reizmittel erzielt. Die Versuchsanordnung war derartig gewählt, daß ein Teil der Rüben dauernd der Einwirkung eines sehr schwachen elektrischen Stromes, dessen Durchschnittsintensität etwa 2 Milliampère betrug, ausgesetzt war.

Der absolute Zuckermehrertrag belief sich auf 0,6 Proz.

Der durchschnittliche Mehrertrag an Gewicht auf 3,8 Proz.

Der durchschnittliche Mehrertrag an Zucker auf 8,7 Proz.

Bei gleichzeitiger künstlicher Bewässerung im Juli und August erhöhten sich diese Mehrerträge bei den elektrisierten Rüben sogar auf 0,8 bezw. 17,1, bezw. 24 Proz. Vogel (Bromberg).

Gedroiz, Der Phosphorsäurebedarf des Rotklees im Zusammenhang mit dem Verlauf der Aufnahme des genannten Nährstoffs und mit der Kleemüdigkeit des Bodens. (Journal für experimentelle Landwirtschaft. 1907. Heft 1.)

Verf. hat ermittelt, daß Klee ähnlich wie Lein schon in den allerersten Perioden seiner Entwickelung sehr große Mengen löslicher Phosphorsäure bedarf. Zur gleichen Zeit verlangten Hafer und besonders Senf bedeutend geringere Mengen löslicher Phosphorsäure, obwohl ihr Gehalt an dem fraglichen Nährstoff größer war. Verf. läßt es zweifelhaft, ob dieser Umstand durch eine geringere Fähigkeit des Klees, die in der Bodenlösung befindliche Phosphorsäure auszunutzen, bedingt war, oder ob die Ursache darin liegt, daß er nur wenig im stande ist, die vom Boden absorbierte Phosphorsäure in Lösung zu überführen. Jedenfalls korrespondiert beim Klee in der Jugend großes Phosphorsäurebedürfnis mit geringer Ausnutzungsfähigkeit für diesen Nährstoff.

In diesem Verhalten des Klees sieht Verf. eine der Hauptursachen der „Kleemüdigkeit“, wie ja unter anderen Bedingungen Kossowitsch den Kalimangel des Bodens für diese Erscheinung haftbar gemacht hat. Eine in ihren Ursachen wahrscheinlich der Kleemüdigkeit entsprechende „Leinmüdigkeit“ des Bodens ist natürlich vom gleichen Gesichtspunkt aus zu betrachten. Ehrenberg (Breslau).

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Delacroix, G., État de nos connaissances sur la fermentation du tabac. (Bull. des Sciences pharmacologiques. Paris 1905. p. 84—95.)

In dieser kurzen Abhandlung geht der Verf. die verschiedenen Theorien durch, die die komplizierten Vorgänge zu erklären suchen, welche sich bei der Reifung des Tabaks abspielen. Die erste Theorie, die von Neßler nach dem älteren Schlösing, nimmt an, daß die Reifung lediglich auf der Wirkung des Sauerstoffs der Luft beruht, der den Inhalt der Zellen angreift und verändert. Nach Suchsland, der die zweite Theorie aufgestellt hat, wird die Reifung bewirkt durch Mikroorganismen, die man züchten und einimpfen kann (Vernhaut und Koning). Die dritte Theorie von Oskar Löw sucht die Vorgänge bei der Reifung durch die Wirkung dreier oxydierender „Diastasen" oder „Oxydasen" auf den Zellinhalt zu erklären: 1) die Oxydase im engeren Sinne; 2) die Peroxydase; 3) die Katalase. Aber diese Gedanken Löws sind nach Gabriel Bertraud, dem Entdecker der Theorie von der allgemeinen Wirkungsweise der Oxydasen, zu unbestimmt. Es unterliegt keinem Zweifel, daß ein großer Teil der Veränderungen, die sich im Tabak abspielen, verschiedenen Diastasen zuzuschreiben ist (amylolytische, proteolytische, oxydierende Diastase), aber bei der Reifung im großen scheinen Bakterien mitzuwirken, besonders, was die Zerstörung der Nitrate und die Erzeugung von Ammoniak betrifft.

Houard (Paris).

Massee, G., Text-book of fungi, including morphology, physiology, pathology, classification etc. XI und 427 p. mit 141 Fig. London (Duckworth & Comp.) 1906. Preis 6 Schill.

Ein gutes Buch für Studierende. Eigene Ansichten findet man in den ersten oben genannten Kapiteln. Die Systematik beruht auf Brefeld. Die Figuren sind recht gut. Matouscheck (Reichenberg).

Constantineanu, J. C., Ueber die Entwickelungsbedingungen der Myxomyceten. (Annales Mycol. Vol. IV. 1906. p. 494—540.)

Keimung der Sporen.

Zur Keimung brauchen die Sporen der Myxomyceten nur Wasser und Sauerstoff. Nach den Versuchen des Verf. keimen die Sporen in ganz reinem destillierten Wasser. Die Keimungsdauer wechselt mit den Arten. Während die Sporen mancher Arten schon nach 30 Minuten keimen, beginnt die Keimung anderer erst nach einigen Tagen, mancher sogar erst nach mehreren Tagen. Da Verf. mit Vertretern aller Familien der Myxomyceten Versuche angestellt hat, so dürfte die Behauptung gerechtfertigt sein, daß ganz allgemein die Keimung der Myxomycetensporen in ganz reinem destillierten Wasser erfolgen kann. Mit spät keimenden Sporenarten wurden Versuche angestellt bei reichlicher und spärlicher Aussaat, aus denen hervorgeht, daß die geringe Menge organischer Substanz, die mit den Sporen eingeführt wird, keinen Einfluß auf die Keimung haben kann.

In Knopscher Nährlösung keimen die Sporen mancher Myxomyceten (Aethalium, Arcyria incarnata, Stemonitis splendens var. flaccida und Leocarpus vernicosus) nicht so gut wie in destilliertem Wasser. Amaurochaete atra und Didymium effusum keimen gut und ertragen Konzentrationen bis zu 4 Proz. Von

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Salzen der Knopschen Nährlösung sind für die Keimung die Phosphate am günstigsten.

In Leitungswasser erfolgt die Keimung der Sporen sehr gut. Die Sporen von Physarum didermoides keimen darin viel regelmäßiger als in destilliertem Wasser. Freie mineralische und organische Säuren wirken schädigend auf die Keimung.

In Kohlehydraten keimen manche Arten (Aethalium, Amaurochaete, Badhamia macrocarpa) sehr gut, andere (Leocarpus) nur wenig. In Extrakten aus natürlichen Substanzen erfolgt die Keimung sehr gut, auch bei den Arten, bei denen man bisher das Gegenteil annahm.

Die Entwickelungsdauer der Zoosporen in destilliertem Wasser und in natürlichen Lösungen schwankt sehr. Sie beträgt bei manchen Arten bis zu 3 Tagen, bei anderen bis zu 5 Tagen. Bei Reticularia dauert sie bei niedriger Temperatur (3—4°) bis zu 10 Tagen. Nur bei Didymium effusum kann die Entwickelung bereits nach 1—2 Stunden abgeschlossen sein, so daß man nach dieser Zeit nur Amöben antrifft, wonach man glauben könnte, diese Art bilde keine Zoosporen. Die Zoosporen von Didymium effusum sind nicht so lebhaft in ihren Bewegungen wie diejenigen anderer Myxomyceten.

Vom osmotischen Druck ist die Keimung unabhängig. Aus einem Vergleich der Keimung in isotonischen Lösungen ergibt sich ein Unterschied zu Gunsten des Zuckers. Somit sind in erster Linie die chemischen Eigenschaften der Substanzen, weniger die osmotischen von Einfluß auf die Keimung.

Niedere Temperatur zwischen 2 und 4° wirkt dahin, daß in ihr die Keimung wohl erfolgen kann, doch nur in geringem Maße. Das zeigten Versuche mit: Aethalium septicum, Physarum didermoides, Didymium effusum, Reticularia Lycoperdon, Perichaena depressa, Amaurochaete atra, Stemonitis flaccida, St. fusca, Comatricha obtusata.

Das Temperaturmaximum für die Keimung liegt bei manchen Arten bei 30°, bei anderen bei 35° und sogar 40° (Aethalium).

Hohe Temperatur hat insofern einen sehr wichtigen Einfluß, als sie die Keimung der Sporen von sonst sehr unregelmäßig keimenden Arten (Didymium, Physarum, Lycogala) beschleunigt. Z. B. keimen die Sporen nach einem 8—12-stündigen Aufenthalt bei 30°, in Zimmertemperatur nach 10—12 Stunden.

Die Sporen können eine Stunde lang eine Trockentemperatur von 80° ertragen, 90° halten sie jedoch nicht mehr aus.

Plasmodienbildung.

Man kann Früchte und Plasmodien in der Kultur in folgenden Lösungen erhalten: Knop 1 Proz., Dextrin 5 Proz., Glukose 2,5 Proz., oder Knop 1 Proz., Dextrin 5 Proz. In diesen Lösungen geht der Entwickelungsgang schneller als auf natürlichen Substraten vor sich.

Aethalium septicum bildet Plasmodien zwischen 14° und 35°, Physarum didermoides zwischen 7° und 30°, Did. effusum zwischen 5 und 10°.

Ph. didermoides bildet Plasmodien und Früchte unter Wasser. Letztere sind von den auf festen Medien gebildeten verschieden. Auf der Sporangienoberfläche ist kein Kalk abgelagert, auch das Capillitium enthält wenig oder gar keinen Kalk.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Unter dem Einfluß von Feuchtigkeit bilden Aethalium septicum, Badhamia macrocarpa und Leocarpus vernicosus stets Cysten, während Trockenheit bei Aethalium fast stets Fruktifikation, bei Amaurochaete, Badhamia, Leocarpus, Physarum didermoides und Didymium effusum stets Encystierung bewirkt.

Unter 13° bildet das Plasmodium von Aethalium sowohl auf feuchten als auch auf langsam eintrocknenden Substraten nichts, nur in 2 Fällen wurde ausnahmsweise Encystierung bei niedriger Temperatur und auf trockenem Substrat bemerkt. Phys. didermoides bildet nichts, Did. effusum encystiert sich auf feuchtem und trockenem Substrat.

Bei hoher Temperatur (30—35°) bildet Aethalium auf feuchtem Substrat nichts. Phys. didermoides und Did. effusum encystieren sich aber.

Vor der Fruktifikation in der Hauptkultur kann man Fruchtbildung bei einem Plasmodiumteil veranlassen, indem man die Nährstoffe entweder durch Wasser entzieht (Did. effusum, Phys. didermoides, Chondrioderma reticulatum) oder eine Nahrungsaufnahme durch Trockenheit verhindert (Aethalium). Bei Did. effusum und Chondrioderma kann man die Fruktifikation auch durch vorhergehende Encystierung beschleunigen.

Während bei Phys. didermoides die Stoffwechselprodukte auf die Fruchtbildung beschleunigend wirken, encystiert sich das Plasmodium von Did. effusum unter ihrem Einfluß.

Sydow (Schöneberg-Berlin).

Cavara, Fr. e **Mollicia, N.,** Ricerche intorno al ciclo evolutivo di una interessante forma di Pleospora herbarum (Pers.) Rabh. (Sep. aus Atti d. Accademia Gioenia di Scienze in Catania (4). Vol. XIX. 1906. 41 pp. mit 2 Taf. und Textfiguren.)

Bei einer Blattfleckenkrankheit von Corypha australis, welche schließlich Zerstörung des Parenchymgewebes zwischen den Nerven herbeiführte, wurden kohlige Perithecien von Pleospora herbarum, Konidien von Alternaria und Macrosporium und Sklerotien beobachtet.

Durch Reinkultur auf verschiedenen Substraten und im hängenden Tropfen konnte festgestellt werden, daß Mycel aus Ascosporen von Pleospora herbarum nur Macrosporium- und keine Alternaria-Konidien liefert. Dieses Mycel bildet zunächst reichlich Anastomosen und Schnallen, darauf Ranken und Wirrzöpfe, welche sich zu einem pseudoparenchymatischen Kerne zusammenfügen und die Anlagen der Sklerotien darstellen. In den Sklerotien entstehen später auf allen Substraten Perithecien, mit Ausnahme von Mohrrüben, Stärkekleister und Gelatine. Das Mycel aus Makrosporiumkonidien liefert ebenfalls Makrosporumkonidien, Sklerotien und Perithecien.

Außer dieser typischen Pleosporaform mit siebenwändigen Ascosporen beherbergten die erkrankten Corypha-Blätter auch Perithecien von Pleospora Alternariae. Mycel aus den zugehörigen Askosporen bildet in Reinkultur birnenförmige, mauerartig septierte, in Ketten vereinigte Konidien von Alternaria tenuis Nees, welche nur Alternaria, unter keinen Umständen Sklerotien oder Perithecien lieferten.

Bezüglich der Sklerotien- und Ascusbildung bei der siebenwändigen Pleospora beobachteten die Verff., daß sich zwei Hyphen aneinander legen, dann ihre Kerne nach der gemeinsamen Zellhaut wandern, worauf

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Kern in der einen Hyphe verschwindet und man zwei Kerne in der anderen Hyphe vorfindet. Die erstere Zelle geht zu Grunde und die herumstehenden Fäden bilden eine Hülle um die Konjugationshyphe. Diesem Geflecht entstammt das Sklerotium, das einige Zellen mit generativem, stark färbbarem Plasma beibehält, woraus Konidienträger direkt entstehen können. Beim Wiederaufwachen des Sklerotiums werden die übrigen, reservestoffführenden Zellen von den generativen aufgelöst und verdaut. Zur Perithecienbildung verlängern sich einige Grundhyphen nach dem Scheitel des Sklerotiums unter Auflösung der dazwischenliegenden Zellen hin. Die lebhaft wachsenden Hyphen enthalten zwei oder vier Kerne unbekannten Ursprungs; sie bilden Längsreihen von einkernigen Zellen, worin sich die askogenen zweikernigen Zellen interkalar ausbilden. E. Pantanelli (Rom).

Fischer, Ed., Ueber den Einfluß des alpinen Standortes auf den Entwickelungsgang der Uredineen. (Verhandlungen der Schweizerischen naturforschenden Gesellschaft in Luzern, 88. Jahresversammlung. Luzern 1906. p. 47.)

Es steht eine Verkürzung der Entwickelung bei den Uredineen mit dem alpinen Standort derselben in Beziehung, denn in der Alpenregion ist ein stärkerer Prozentsatz der Mikroformen vorhanden und andererseits wies O. Schneider nach, daß die Uredoentwickelung bei den Melampsoren der alpinen Salix-Arten eine kürzere ist als bei denen der Ebene. B. Ivanoff hat Exemplare von Pimpinella magna, die gleichzeitig mit gleichem Uredomaterial von Puccinia pimpinellae infiziert worden waren, gleichzeitig in Bern und auf dem Faulhorn beobachtet und fand, daß auf diesem Berge am 28. Juli Uredo- und Teleutosporen gleichzeitig und etwa im Verhältnisse von 2:1 auftreten, während in Bern schon am 24. Juli Uredo-, aber erst am 31. Juli nur vereinzelte (!) Teleutosporen zu sehen waren. Diese Beispiele zeigen eine Anpassung durch direkte Einwirkung klimatischer Faktoren und erbliche Fixierung. Matouschek (Reichenberg).

Arthur, J. C. and **Kern, F. D.,** North American species of Peridermium. (Bull. of the Torrey Botanical Club. Vol. XXXIII. 1906. p. 403—438.)

Verff. beschreiben in dieser gründlichen Arbeit die in Nordamerika auftretenden Arten von Peridermium. Es werden 30 Species aufgeführt; 3 von diesen sind zwar noch nicht in Nordamerika aufgefunden, doch kommen die zugehörigen Teleutosporenformen dort vor.

Wir geben nachstehend eine Aufzählung der unterschiedenen Arten; es sind sämtlich in forstlicher Hinsicht sehr schädliche Pilze:

Peridermium delicatulum n. sp. auf Pinus spec. in Florida.

P. montanum n. sp. auf Pinus scopulorum in Montana.

P. acicolum Underw. et Earle auf Pinus rigida in New Jersey, Connecticut, Massachusetts, New York.

P. carneum (Bosc) Seym. et Earle, auf Pinus palustris, Taeda, Elliottii in vielen Staaten weit verbreitet.

P. intermedium n. sp. auf Pinus echinata in Missouri und Arkansas.

P. Rostrupi Ed. Fisch. auf Pinus rigida in Ohio, New Jersey.

P. gracile n. sp. auf Pinus filifolia in Mexiko.

P. filamentosum Peck auf Pinus ponderosa in Arizona.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

P. stalactiforme n. sp. auf Pinus Murrayana, Jeffreyi in Washington und Nevada.

P. pyriforme Peck auf Pinus rigida, virginiana, silvestris in New Jersey und Missonri.

P. Harknessii Moore auf Pinus insignis, Murrayana, ponderosa, contorta in Kalifornien, Washington, Nebraska, Alaska.

P. fusiforme n. sp. auf Pinus Taeda, palustris in Alabama, Florida, Texas, Georgia.

P. mexicanum n. sp. auf Pinus patula, oocarpa in Mexiko.

P. cerebrum Peck auf Pinus rigida, virginiana, divaricata, echinata, Taeda in vielen Staaten.

P. globosum n. sp. auf Pinus Strobus in Wisconsin.

P. boreale n. sp. auf Picea Parryana, Engelmanni in Colorado, S.-Dakota, Washington, Kanada.

P. coloradense (Diet.) auf Picea Engelmanni, Mariana in vielen Staaten.

P. consimile n. sp. auf Picea Mariana, rubra in New York, Vermont, Minnesota, Kanada.

P. decolorans Peck auf Picea Mariana, rubra, Engelmanni, sitchensis, canadensis in vielen Staaten.

P. abietinum (A. et S.) (nur die Teleutosporenform bisher gefunden).

P. pseudo-balsameum (D. et H.) auf Abies grandis in Kalifornien.

P. Holwayi Syd. auf Abies lasiocarpa in Britisch-Kolumbien.

P. conorum-Piceae (Reess) auf Picea Mariana, rubra, canadensis, Engelmanni, excelsa, in New Hampshire, New York, Maine, Kolorado, Massachusetts.

P. columnare (A. et Schw.) (nur die Teleutosporenform bisher gefunden).

P. ornamentale Arth. auf Abies lasiocarpa in Washington, Kanada.

P. Peckii Thuem. auf Tsuga canadensis in New Hampshire, New York, Massachusetts, Virginia, West Virginia.

P. elatinum (A. et Schw.) auf Abies balsamea, lasiocarpa, religiosa in vielen Staaten.

P. balsameum Peck auf Abies balsamea, grandis in vielen Staaten.

P. Laricis (Kleb.) (nur die Teleutosporenform Melampsoridium betulinum gefunden).

P. Ephedrae Cke. auf Ephedra nevadensis, pedunculata, trifurca, californica, Torreyana in den westlichen Staaten und Mexiko.

Von diesen Arten leben P. filamentosum, stalactiforme, pyriforme, Harknessii, fusiforme, mexicanum, cerebrum, globosum auf der Rinde, P. conorum-Piceae auf Zapfen, alle übrigen auf Nadeln. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Aderhold, Versuche über den Einfluß häufigen Regens auf die Neigung zur Erkrankung von Kulturpflanzen. (Arbeiten aus der Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. Heft 6.)

Infektionsversuche mit verschiedenen pflanzlichen Schädlingen an

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturpflanzen, die teils bei häufigem Regen, teils in Trockenheit u. s. w. wuchsen, zeitigten meist keine erwähnenswerten Ergebnisse.

Ehrenberg (Breslau).

Bolle, J., Ueber die von der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Görz im Jahre 1906 beobachteten Pflanzenkrankheiten und tierischen Schädiger. (Zeitschr. f. das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1907. p. 230.)

Peronospora trat an verschiedenen Orten frühzeitig und besorgniserregend auf; ein späteres Auftreten im Juli war nur sporadisch und konnte erfolgreich bekämpft werden. Der echte Meltau wurde durch rechtzeitiges Bestäuben mit Schwefelpulver hintangehalten. Die erste Generation des Sauerwurms (Cochylis ambiguella Hbn.) wurde zwar durch ungünstige Witterung zerstört, dafür richteten die Larven der zweiten Generation an den Trauben stellenweise bedeutenden Schaden an. Sommerdürre und Stürme und andere Witterungsunbilden richteten in Weingärten große Beschädigungen an. Die Coccus-Art Dactylopius vitis sowie der Apfelblütenstecher (Anthonomus pomorum L.) und der Birnknospenstecher (Anthonomus piri Boh.) sind stark aufgetreten (gegen die beiden letzteren erwies sich Parisergrün nahezu erfolglos), ferner auch die Raupen der Apfelbaumgespinstmotte (Hyponomeuta malinella Zell.). Der kleine Frostspanner (Cheimatobia brumata L.) hat an Obst- und insbesondere an Kirchbäumen starke Verbreitung gefunden, doch gelang es überall dort, wo Kleberinge zur Verwendung kamen, die Bäume zu schützen. Die Blutlaus (Schizoneura lanigera Hausm.) scheint wieder auf Aepfelbäumen zuzunehmen. Zum ersten Male wurde in einer Gemeinde das Weizenälchen (Tylenchus scadens Schneid.) in Weizenkörnern beobachtet. In Gartenanlagen von Triest und Umgebung leiden schon seit einigen Jahren die Evonymus-Pflanzen an einer starken Infektion durch eine Schildlaus (Chionaspis Evonymi C.) und blieben verschiedene zur Anwendung gelangte Bekämpfungsmittel erfolglos. Aussicht auf erfolgreiche Bekämpfung dürfte vielleicht das Aussetzen natürlicher Feinde haben; bisher vorgenommene Versuche mit einer kleinen Schlupfwespe (Aspidiotiphagus citrinus Craw.) erscheinen vielversprechend. Die Maulbeerbaumschildlaus (Diaspis pentagona Targ. Tozz.) hat in Triest und Umgebung die Maulbeerbäume stark verseucht und ist mehr oder weniger stark auch auf folgenden Pflanzen aufgetreten: 1) Papier-Maulbeerbaum (Broussonetia papyrifera L.), 2) japanischem Schnurstrauch (Sophora japonica L.), 3) Pueraria Thunbergiana Benth., einer aus Japan stammenden Schlingpflanze aus der Familie der Leguminosen und 4) Geraniumpflanzen. Die Einschleppung der Diaspis erfolgte höchstwahrscheinlich durch Einfuhr von Zier- und Allepflanzen aus dem Auslande. Energische Bekämpfung erscheint notwendig und es wurden auch bereits die notwendig erscheinenden Maßnahmen eingeleitet. Von den tierischen Feinden der Maisspeicher wurden die folgenden angetroffen: Mehlmilbe (Tyroglyphus farinae C. L. Koch), schwarzer Kornwurm (Calandra granaria L.), Reiskäfer oder indischer Kornwurm (Calandra oryzae L.), gemeine Brotkäfer (Tenebroides mauritanicus L., Tribolium ferrugineum Fabr., T. confusum Duval), Kornmotte (Tinea granella L.), französische Getreidemotte (Sitotroga cerealella Ol.) und der Hirsezünsler

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(Botys sileacealis Hbn.). Betreffs der Seidenraupenzucht wurden die umfassenden Studien zum Abschluß gebracht, welche die parasitäre Natur der Gelbsucht definitiv feststellen. Versuche, Seidenraupenfutter mit Kupfervitriollösung zwecks Vorbeugung gegen Krankheiten zu desinfizieren, haben gezeigt, daß selbst eine 0,4 ‰ Kupfervitriollösung, in welcher das Laub 1 Stunde lang eingetaucht wurde, weder die spezifischen Bakterien der Schlafsucht, noch die Sporen der Botrytis Bassiana, d. h. des die Schlafsucht bedingenden Pilzes, in ihren Entwickelungen zu hemmen vermag. Stift (Wien).

Busse, W., Bericht über die pflanzenpathologische Expedition nach Kamerun und Togo 1904/1905. (Beihefte zum Tropenpflanzer. Jahrg. 1906. No. 4/5.) 100 pp., 8 Textabbild. 4 Taf. Berlin 1906.

Die Expedition wurde ausgeführt im Auftrage des Kolonial-Wirtschaftlichen Komitees zwecks orientierender Vorarbeiten über Schädlinge und Krankheiten der Kulturen, in erster Linie des Kakaos in Kamerun und der Baumwolle in Togo. Sie fand statt in der Zeit vom 9. August 1904 bis 31. März 1905. Der vorliegende offizielle Bericht behandelt die Biologie, den landwirtschaftlichen Schaden und die Bekämpfung pflanzlicher und tierischer Schädlinge. So im Kapitel II „Die Krankheiten und Schädlinge des Kakaobaumes und ihre Bekämpfung“. Im Kapitel III wird berichtet „Ueber einige Schädlinge der Kautschukbäume in Kamerun“. Kapitel VI bespricht „Die Krankheiten und Schädlinge der Baumwolle“. Kapitel VII handelt „Ueber einige Schädlinge sonstiger Kulturpflanzen in Togo“. Darüber hinaus gibt Verf. ein höchst anschauliches Bild von dem damaligen Stand der Pflanzungen unserer westafrikanischen Kolonieen überhaupt, speziell der Kakao- und Baumwollkultur, und verbreitet sich auf Grund der gesammelten Erfahrungen über die Aufgaben der dortigen Landwirtschaft und über Mittel und Wege zu ihrer praktischen Förderung. So unter anderem in Kapitel IX über „Die Versuchsanstalt in Viktoria und Aufgaben der Landeskultur in Kamerun“. Aus der Fülle des Berichtes wird hier naturgemäß nur das herausgegriffen, was die Parasiten betrifft.

Parasiten und Feinde des Kakaobaumes in Togo sind: die Phytophthora, welche die Braunfäule der Früchte verursacht; der Kakaowurzelpilz, wahrscheinlich ein Verwandter der Armillaria mellea, unseres einheimischen Hallimaschs; die Rindenwanze; die Hamsterratte, Cricetomys gambianus. Harmlosere Bewohner des Kakaobaumes sind: die Blattwanze Bathycoelia thalassina Schout., die Blattlaus Toxoptera theobromae Schout. und die Schildläuse Ceroplastes theobromae Newst. und bussei Newst., sowie Hemilecanium theobromae Newst. Die letzteren 5 Arten sind der Zoologie erst durch Busses Forschungen bekannt geworden; um ihre Diagnose und Beschreibung haben sich Schouteden und Newstead verdient gemacht. Der schlimmste Parasit ist die Phytophthora (vergl. auch Busse in Tropenpflanzer. 1905. No. 1 u. 5). Die Rindenwanze ist eine Heteroptere aus der Familie der Capsiden, Sahlbergella singularis Hagl. Diese Capside wurde von Kuhlgatz irrtümlich im Zoologischen Anzeiger 1906. No. 1/2 als Deimatostages contumax[1]) neu beschrieben. Der ihr zukommende Name ist Sahl-

1) Durch Verschulden dieser irrtümlichen Neubeschreibung figuriert die Rindenwanze in Busses Arbeit noch als Deimatostages contumax. Ref.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bergella singularis Hagl. (Vergl. E. Haglund in Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar. Jahrg. LII. 1895. p. 469 und O. M. Reuter im Zoologischen Anzeiger. Bd. XXXI. 1907. No. 4. p. 102—105.) Sahlbergella singularis war bereits bekannt aus dem Kongogebiet. Sie ist offenbar, wie wohl die meisten schädlichen Insekten unserer afrikanischen Kolonieen, im Lande selbst ursprünglich einheimisch. Zur Biologie dieser Wanze konnte Busse feststellen, daß die geflügelten Tiere nur schwerfällig fliegen, aber von starken Winden fortgetragen werden. Bei Windschutz wirkte dagegen schon eine 6 m breite Straße hindernd auf ihre Weiterverbreitung. Hat sich die Sahlbergella erst einmal auf einem Baume einer Pflanzung eingenistet, so greift sie mehr oder weniger schnell auf die anderen Bäume über. Busse gibt auf Taf. I die Totalansicht eines jungen, von der Sahlbergella befallenen Kakaobaumes, auf der besonders die im Verfolg des Befalles auftretenden „Wasserreiser“ zu sehen sind. Als Bekämpfungsmittel empfiehlt Busse Absuchen, am besten mit Leimruten, sowie Entfernen und Verbrennen der befallenen Triebe und gleichzeitige Bespritzungen der Bäume mit Insektengiften, namentlich Schweinfurter Grün. Wird in hoffnungslosen Fällen Kappen der Bäume nötig, so müssen die Stümpfe innerhalb der nächsten 8 Tage bespritzt werden. In Hemilecanium theobromae stellt Verf. uns ein bemerkenswertes Beispiel von Mimikry vor. Diese an den Stämmen sitzende Schildlaus sieht flachen Rindenhöckern täuschend ähnlich.

Castilloa elastica litt stark unter dem Bockkäfer Jnesida leprosa, Kixia gelegentlich unter dem Bockkäfer Phrystola coeca. Kixia außerdem unter der Motte Glyphodes ocellata, sowie unter Blattflöhen, Psylla. Letztere verursachen Blattdeformationen.

In den Baumwollpflanzungen Togos fand Busse in einem Falle die Rostkrankheit, Uredo gossypii. Von anderen Plagen grassiert hier der „Wurzelfraß“, vielleicht zurückzuführen auf Elateriden. Ferner der auch in Deutsch-Ostafrika aufgetretene Baumwollwurm, Earias insulana (Lepidoptere). Von Rhynchoten: Dysdercus superstitiosus, Oxycarenus hyalinipennis, Cicadelliden und Aphiden. Die Rotwanzen, Dysdercus[1]), zeigen sich in Togo und Deutsch-Ostafrika überall an den Abfällen bei den Ginmaschinen. In Togo konstatierte Busse nur den Dysdercus superstitiosus. Er fand das Tier auch fern von jeder Baumwollpflanzung auf den verschiedensten wildwachsenden Pflanzen, so besonders auf dem Kapokbaum, Ceiba pentandra. Busse vermochte sich selbst für jetzt nicht von irgendwelcher Schädlichkeit dieser Rhynchoten auf der Baumwollpflanze zu überzeugen und berichtet daher mit gewissem Vorbehalt, daß sie nach anderen Autoren die unreifen Kapseln und Samen anstechen und den Marktwert der Faser durch Beschmutzen mit ihren Exkrementen beeinträchtigen sollen. Hierzu ist zu bemerken, daß man ihnen in Togo wohl die gleiche Tätigkeit wird zutrauen müssen, die sie nachgewiesenermaßen anderswo ausüben. Busse hält erneute Beobachtungen an Ort und Stelle für wünschenswert, und bis dahin eine Bekämpfung kaum für nötig. Aehnlich ist sein Urteil über die bekannte kleine, graue Baumwollwanze, Oxycarenus hyalinipennis.

1) Es sei hier auch verwiesen auf die wertvollen neueren Arbeiten Vosselers aus Deutsch-Ostafrika, über die ich kürzlich an dieser Stelle berichtet habe. Auch darf ich aufmerksam machen auf meine Abhandlung: „Schädliche Wanzen und Cikaden der Baumwollstauden“ in Mitteil. aus d. Zoolog. Museum zu Berlin. Bd. III. 1905. Heft 1. Ref.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein empfindlicher Parasit auf amerikanischem Mais ist in Togo eine noch nicht näher identifizierte Schmetterlingslarve und in ihrem Gefolge der Kornkäfer, Calandra. Sorghum beherbergte die Blattlaus Aphis sorghella Schout., sowie die Puccinia purpurea Cooke, Kokos und Calophyllum Inophyllum die Schildlaus Aspidiotus destructor Sign. Auf dem Odumbaume, Chlorophora excelsa, wird von einer Psylla-Art eine gefährliche Gallenkrankheit hervorgerufen. Diese Gallenkrankheit tritt auch in Deutsch-Ostafrika auf demselben Baume auf, und zwar hier recht empfindlich. Ich verweise auf eine soeben erschienene ausführliche Arbeit Vosselers, über die demnächst an dieser Stelle referiert werden soll: „Eine Psyllide als Erzeugerin von Gallen am Mwulebaum [Chlorophora excelsa (Welw.) Benth. et Hook] in „Zeitschrift für wissenschaftliche Insektenbiologie". Jahrg. 1906. p. 276—285 u. 305—316. Hiernach ist der Gallenerreger die Psyllide Phytolyma lata Scott. Vosseler bespricht unter Beigabe von Abbildungen eingehend Morphologie, Entwickelung, Biologie, die verursachten Gallen, den pathologischen Einfluß auf den Baum, die natürlichen Feinde sowie die Bekämpfung dieses Schädlings. Zu der auf Kokos und Calophyllum auftretenden Schildlaus, Aspidiotus destructor, konnte Busse höchst wirksame Feinde in Gestalt zweier Coccinelliden-Arten aus der Gattung Chilocorus feststellen. Eine kurze Bemerkung möchte ich zu der auf amerikanischem Mais auftretenden Schmetterlingslarve machen: Busse konstatierte, daß diese so schädliche Larve den einheimischen afrikanischen Mais nicht angeht, und neigt daher zu der Annahme, daß dieser Schmetterling aus Amerika eingeschleppt ist. Demgegenüber mag hier darauf hingewiesen sein, daß eine solche Einschleppung wohl möglich, aber nicht ohne weiteres wahrscheinlich ist. Rekrutieren sich doch die meisten derartigen Insektenschädlinge unserer Kolonieen erfahrungsgemäß aus ursprünglich einheimischen Insektenarten, die mit Vorliebe von ihren bisherigen wildwachsenden Nährpflanzen auf eingeführte Kulturpflanzen übergehen und sich auf ihnen heimisch machen. Wenn der afrikanische Mais von dieser Lepidopterenlarve nicht befallen wird, so kann man das mit ebenso viel, wenn nicht mit mehr Wahrscheinlichkeit in der Weise erklären, daß der einheimische Mais eben gegen diesen einheimischen Schädling mit der Zeit eine Immunität erlangt hat, die der eingeführte amerikanische Mais natürlich nicht besitzen kann.

Soviel über die pflanzenpathologischen Resultate der Arbeit. Verf. gibt zu allen Schädlingen ausführliche Ratschläge über die Art und Weise, sowie über den geeigneten Zeitpunkt der Bekämpfung, unter anderem auch Rezepte zur Herstellung wirksamer Insekticide. Eine von ihm konstruierte Spritze mit langem und stark gebogenem Ende zur Bekämpfung von Jnesida leprosa ist abgebildet.

Th. Kuhlgatz (Berlin).

Zederbauer, Emerich, Die Folgen der Triebkrankheit der Pseudotsuga Douglasii Carr. (Centralbl. f. das gesamte Forstwesen. 1906. Heft 11. [4 Seiten des Separatabdruckes.] Mit 2 Textbildern.)

Infektionen mit Botrytis von der Douglasie auf Tanne und mit Botrytis von der Tanne auf die Douglasie ausgeführt, sind gut gelungen und machen es höchst wahrscheinlich, daß Botrytis Douglasii und B. cinerea identisch sind, eine Ansicht, die auch R. Hartig und Tuzson aussprachen. Die Douglasie scheint von

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Tanne oder Fichte infiziert worden zu sein. Die Versuche wurden in Mariabrunn (Nieder-Oesterreich) ausgeführt. Im Forstbezirke Aurach (Ober-Oesterreich) konnte Verf. die durch diesen Pilz erzeugte Triebkrankheit und ihre Folgen beobachten. Sie ist in einem zurückgebliebenen Bestande zu Hause; die in dichtem Schlusse stehenden Individuen der Pseudotsuga wurden aber nicht befallen, ein Zeichen, daß die Infektion in den freien, vom Winde stark bestrichenen Teilen besonders gefördert wurde. Ueberdies ist die Feuchtigkeit im Tale eine derartig große, daß der Pilz auch an freistehenden Individuen gedeihen kann. Auf den befallenen und auf einigen gesunden Exemplaren der Douglasie sind hexenbesenartige Gebilde entstanden, deren Ursache der Pilz ist; im Versuchsgarten wurden durch Infektion auch solche Hexenbesen hervorgerufen. An der Ansatzstelle des abgestorbenen Triebes entstehen mehrere Knospen, die im selben Jahre und nächsten Jahre kurze Triebe machen. In der Zeit darauf wiederholt sich der Vorgang und die Folge ist ein vielverzweigtes Gebilde. Selten treten die Hexenbesen auf dem Gipfel auf. Auch in einem Pflanzgarten bei Neuhaus (Südböhmen) kommen diese Hexenbesen vor. Sicher ist, daß im Freilande der Pilz auf der Douglasie nie in so großem Maßstabe auftritt als in Pflanzgärten.

Entfernung der kranken Individuen oder der erkrankten Zweige und die Bespritzung mit Kupfermitteln führte in Pflanzgärten zu gutem Resultate hinsichtlich der Abwehr und Ansteckungsgefahr.

Matouschek (Reichenberg).

Buhlert, Untersuchungen über das Auswintern des Getreides. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. 1906. Heft 6.)

Verf. gelangt durch seine ziemlich umfangreichen Untersuchungen zu den nachfolgenden Ergebnissen, denen er allerdings in Anbetracht der noch nicht genügend umfassenden Forschung nur bedingte Richtigkeit beimessen will:

1) Bei gegen Frost weniger widerstandsfähigen Sorten ist die Massenentwickelung sowohl über, wie unter der Erde eine größere.

2) Blätter winterharter Sorten sind verhältnismäßig länger als breit, und dürften deswegen eher eine günstige, dem Frost weniger Angriffspunkte bietende Stellung einnehmen.

3) Plasmolyse wurde durch Frost in der Natur in sehr verschiedenem Umfange verursacht, und zwar zeigte sich dabei auch Einfluß der Pflanzenart, indem z. B. bei Fichtennadeln nie Frostplasmolyse festgestellt werden konnte, sehr häufig aber bei Getreide. Interessant ist, daß die verschiedenen Getreidearten, ja, sogar die Sorten bei künstlicher Plasmolyse durch Salzlösungen verschiedenes Verhalten zeigten.

4) Auch chemische Umsetzungen dürften sich in einer erfrierenden Pflanze vollziehen, z. B. konnte aus dem Zellsaft erfrorener Pflanzen durch Zusatz von Kochsalz oder Zinksulfat Eiweiß in geringerer Menge ausgesalzen werden, als aus dem Saft lebender Pflanzen. Es ergibt sich eine gewisse Korrelation zwischen Frostempfindlichkeit und größerer oder geringerer Aussalzbarkeit des Zellsafteiweißes lebender Pflanzen. Zellsaft aus lebenden Pflanzen zeigte, wenn man ihn frieren ließ, später beim Auftauen je nach der benutzten Pflanzenart und Kälte Eiweißniederschlag in verschiedener Menge, der bei nicht gefrorenem Zellsaft ausblieb.

Ehrenberg (Breslau).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kirchner, Ueber die Empfänglichkeit verschiedener Weizensorten für die Steinbrandkrankheit. (Fühlings landwirtschaftliche Zeitung. 1906. Heft 23.)

Von Wintergetreide wurde unter 89 Sorten gemeinen Weizens nur der Fuchsweizen aus der Wetterau als beachtenswert wegen seiner Steinbrandfestigkeit befunden, einige andere Sorten sind vielleicht noch weiterer Prüfung wert. Unter 8 Winterdinkelsorten erwies sich in zwei Versuchsjahren der blaue Winterkolbendinkel gegen Steinbrand widerstandsfähig.

Vom Sommergetreide zeigte Vilmorins Odessasommerweizen sans barbe starke Unempfänglichkeit, ebenso noch der galizische Kolbenweizen. Einer weiteren Prüfung bedarf noch der Groß-Rosenburger Weizen. Auch mehrere Hartweizen waren sehr wenig befallen, kommen jedoch für deutsche Verhältnisse nicht in Frage. Von Dinkeln zeigte sich der blaue, samtige Grannendinkel als brandfrei. Ebenso teilte diese Eigenschaft sonderbarerweise das Sommer-Einkorn, während das Winter-Einkorn brandempfänglich war. Ehrenberg (Breslau).

Brizi, U., Ulteriori ricerche intorno al brusone del riso. (Annali d. Istituzione agraria Ponti, Milano. Vol. VI. 1906. 45 pp. mit 3 Tafeln.)

Gegen die Einwände, welche von verschiedener Seite, insbesondere von R. Farneti (Riv. di patol. veg. 1906) gegen seine Anschauung des Brusone (Brenner, Feuerkrankheit) des Reises als einer nicht parasitären Krankheit gemacht werden, betont Verf., daß die angeblichen pilzlichen Parasiten, insbesondere Piricularia Oryzae, auf brusonekranken Reispflanzen nicht immer vorkommen, wohl aber findet man regelmäßig Wunden oder Beschädigungen auf den Wurzeln, welche verbräunen und leicht reißen. Verf. hat die Kulturversuche in schlecht belüftetem Wasser mit denselben positiven Ergebnissen wie früher wiederholt. Um den Einwand zu beseitigen, daß im Reisfeld das Wasser stetig erneuert wird, hebt er hervor, daß der Brusone in Reisfeldern mit lockerem Boden gar nicht, wohl aber in solchen mit tonigem, zähem Boden vorkommt, wo das Wasser stauen muß. Verf. gibt aber zu, daß er selbst nicht im stande ist, die wahre Ursache der Krankheit anzugeben. E. Pantanelli (Rom).

Peglion, V., Di un' alga nociva a le risaje e dei mezzi per combatterla. (Sep. aus l'Agricultura Ferrarese. 1906. 16 pp.)

In ämilianischen Reisfeldern kann das Wassernetz, Hydrodictyon reticulatum, durch Erstickung der jungen Reispflanzen erheblichen Schaden anrichten, welcher bei Anwendung von Düngemitteln nur vermehrt wird. Verf. konnte die störende Alge durch Bespritzung mit 1500 g gelöstem Kupfersulfat pro tornatura leicht beseitigen.

E. Pantanelli (Rom).

Bain, S. M. and **Essary, S. H.,** A new anthracnose of alfalfa and red clover. (Journ. of Mycology. Vol. XII. 1906. p. 192—193.)

Auf den Stengeln und Blattstielen, mitunter auch auf den Blättern von Trifolium pratense und Medicago sativa tritt in einigen Staaten Nordamerikas eine neue Krankheit schädigend auf. Sie ruft schwarze oder braune Flecke hervor, auf welchen die Pilzrasen entstehen. Der Pilz wird als Colletotrichum Trifolii Bain nov. spec. bezeichnet.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Petri, L., Ricerche sopra la batteriosi del fico. (Rendic. Acc. Lincei. Vol. XV. Roma 1906. p. 644—651.)

Verf. bestätigte im ganzen die Ergebnisse der Untersuchungen Cavaras an bakterienkranken Feigenbäumen, und isolierte aus den Tracheen und Tracheiden der vergilbten Blätter, sowie von der Unterseite dieser den gleichen Mikroorganismus, den er aus kranken Holzpartien durch Kulturen gewann. Der Mikroorganismus dürfte mit Bacterium Fici Cav. übereinstimmen.

Die anfangs weißen Kolonieen des Mikroorganismus werden auf Agar (mit Zusatz von Pepton und 1 Proz. Glykose) und auf Gelatine allmählich schwefelgelb und bilden zunächst im Zentrum, dann auch an der Peripherie Häufchen von Bakterienkapseln mit 1 bis mehreren Einschlüssen, welche in einem späteren Vermehrungsstadium längliche, eiförmige, einfache oder multiple Zooglöen (die botryoiden Zooglöen Cavaras) entwickeln. Die Gelatine wird schon vom zweiten Tage an trichterförmig geschmolzen. Milch gerinnt nicht und gibt neutrale Reaktion; Lackmus wird nicht reduziert; eine Peptonlösung gibt nur schwache Indolreaktion; Nitrate werden nur unmerklich reduziert.

Dieser bewegliche, mit 4—5 Wimperfäden von 6—8-facher Körperlänge versehene Organismus dürfte dem Ascobacterium luteum Babès als besondere Form angehören, von welchem gleichfalls, nach dem Nährsubstrate verschieden, besondere Formen sein dürften: Ascobacillus citreus Un. et Tomm., A. Sacchari Sm., Bacillus capsulatus Trifolii Petri, Bacterium gummis Com. p. p., die Bacillen der Oelbaumtuberkeln, Peglions-Bacillen im Oleander, eine ähnliche in den Geranienblättern u. s. w. Solla (Pola).

Aderhold und Ruhland, Der Bakterienbrand der Kirschbäume. (Arbeiten aus der Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. Heft 6.)

Verff. teilen eingehend ihre Untersuchungen über eine neue Krankheit der Kirsch- und vielleicht verwandter Obstbäume mit. Die fragliche Schädigung kann, wie an Beispielen ausgeführt wird, sehr erheblichen Umfang annehmen, und ist auch bereits ziemlich verbreitet; sie führt teils völliges Absterben, teils auch nur geringere Benachteiligung der Bäume herbei, und ergreift vorwiegend junge, üppige Pflanzbäume oder Baumschulstämmchen. Als Ausnahme ist hervorzuheben, daß Sauerkirschen verhältnismäßig sehr wenig leiden.

Nach verschiedenen Bemühungen gelang es, als Urheber einen neuen Bacillus, den die Verff. mit Rücksicht auf das eigentümliche Bild seiner Kolonieen spongiosus nennen wollen, zu isolieren. An der Hand der durchgeführten Impfversuche sieht man, daß Bacillus spongiosus seine Haupttätigkeit im zeitigsten Frühjahr, vor und während des Austriebes der Bäume entfaltet; dem entsprechend liegt auch sein Wachstumsoptimum bei verhältnismäßig niederer Wärme. Nähere Untersuchungen über die Art, wie und wo das Bakterium von einer Zelle zur anderen wandert, und wie es die Zellen in ihrem Leben beeinflußt, blieben vorläufig ergebnislos. Doch sind die Verff. geneigt, in den bei der Gegenwart von Zucker durch den Bacillus gebildeten Mengen von Essig- und Buttersäure eine Ursache der Pflanzenschädigung zu sehen.

Für die Bekämpfung der Krankheit kommt nur Entfernung erkrankter Teile, bezw. ganzer Stämmchen in Frage. Besonders wird Baumschulbesitzern größte Vorsicht und schärfstes Vorgehen empfohlen, das nach vorliegenden Beispielen zu Erfolgen führt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zum Schluß wird noch ein gelegentlich der vorbehandelten Untersuchungen isolierter Bacillus irritans beschrieben. Derselbe ist Saprophyt. Ehrenberg (Breslau).

Peglion, V., Intorno ad un caso di emiparasitismo del Rhacodium cellare. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei (5). Vol. XIV. 1905. II. Sem. p. 741—743.)

Die Schwärze gelagerter Eßkastanien rührt von Rhacodium cellare her, dessen Mycel in den Intercellularräumen des Keimblättergewebes leicht vordringt und peripherisch schwarz wird. Es scheidet eine Oxydase aus, die den Gerbstoff als blauschwarze, amorphe Masse fällt und den Protoplasten des Wirtes tötet. Der Schaden kann ein recht erheblicher sein. Nebenbei kommt Papulospora sepedonioides vor, die bisher in Italien unbekannt war. E. Pantanelli (Rom).

Petri, L., Novi studii su la Brusca dell'Olivo. (Bull. d. Ministero di Agricultura (2). Anno V (1906). Vol. I. 8 pp.)

In den ersten Novembertagen trifft man auf der Unterseite bruscakranker Oelbaumblätter mikroskopisch kleine (50—70 μ Durchmesser), hypodermische Pyknidien von Stictis Panizzei, welche die in Atemhöhlen von Spaltöffnungen mündenden Gewebelücken erfüllen. Innerhalb der Pyknidien werden stäbchenförmige, $3—4 \times 0{,}5—0{,}8$ μ große Stylosporen ausgebildet. Man kann bis 50 solche Pyknidien pro Quadratmillimeter zählen, was einiges Licht über das rasche Umhergreifen der Krankheit im Spätherbst wirft. Sodann bilden sich auf der Blattoberseite Apothecien, deren Askosporen bei —4° bis —5° C absterben. Die Uebertragung der Krankheit auf gesunde Blätter scheiterte. Um das Pyknidien-, resp. Apothecienfeld zu isolieren, bildet das Blatt ein Phellogen, welches aber im nachfolgenden Herbste vom Pilzmycel durchbrochen wird, um gesunde Blattpartieen zu erobern. Oelbaumspielarten mit saurem Zellsaft zeigen eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen Brusca. Düngungs- und Bespritzungsversuche gaben bisher kein positives Resultat.

E. Pantanelli (Rom).

Linhart, Pseudoperonospora Cubensis auf Melonen und Gurken. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1906. Heft 6.)

Verf. teilt mit, daß Wassermelonen gegen Pseudoperonospora Cubensis widerstandsfähiger sind als Gurken und Zuckermelonen. Das Bespritzen mit 1- bezw. $1^1/_2$-proz. Bordeauxbrühe erwies sich als gutes Vorbeugungsmittel, muß nur in regenreichen Jahren nicht zu selten angewendet werden, zumal stets dann von neuem, wenn ausgiebiger Regen das Kupferkalksalz abgewaschen hat. Ehrenberg (Breslau).

Vosseler, J., Gurkenschädlinge in Ostusambara. (Der Pflanzer. Tanga. Jahrg. I. p. 283—287.)

Bei Gurken, die im Usambaralande gleich anderen europäischen Gemüsen im allgemeinen gut gedeihen, treten plötzliche Krankheitserscheinungen auf, die zu näherer Untersuchung Veranlassung gaben. Vosseler fand an den Wurzeln Wurzelälchen, Heterodera, die höchst schädliche Knötchenbildungen verursachen; außerdem große, ein langsames Eingehen der Pflanzen herbeiführende Wurzelläuse. Eine in der Erde, nahe der Oberfläche lebende Eulenraupe frißt bei Nacht die noch nicht verholzten Stengel der jungen Pflanzen dicht über dem Boden an, und die Pflanzen erscheinen dann morgens quer abgeschnitten. Die Heuschrecke Chrotogonus hemipterus Schaum frißt den

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Endtrieb der Blätter an. Ein kleiner braunschwarzer, auf dem Rücken etwas hell gefleckter Rüsselkäfer frißt Löcher in die Blätter. Der Blasenkäfer Mylabris bihumerosa Mars. verletzt die Blüte. Hin und wieder verirren sich Nacktschnecken auf die Pflanzen, sie hier und dort anfressend. Alle diese Schädlinge treten außer auf den Gurken auch auf anderen Kulturpflanzen auf. Dagegen fand Vosseler die Larve einer gewissen Fliegenart bislang ausschließlich auf den Früchten der Gurke, die Fliege selbst auch auf Unkräutern. Die Fliege legt ihre Eier an die fast reife Frucht ab, und die ausschlüpfenden Maden bohren sich in das Fruchtfleisch ein. Es entstehen lokale Wachstumsstockungen, Verkrümmungen der Frucht, bräunliche Flecke, faulige Partieen. Die Verpuppung erfolgt in der Erde in einem Tönnchen. Zu diesen tierischen Schädlingen kommt endlich noch ein gefährlicher Pilz, die Peronospora cubensis B. und C. (vergl. hierzu auch Zimmermann in Berichte über Land- und Forstwirtschaft Deutsch-Ostafrikas. Bd. 2. Heft 1. p. 36). Außer den von Vosseler im einzelnen Falle gegen diese Schädlinge empfohlenen Bekämpfungsmaßregeln wird als allgemein wirksam besonders ein geregelter Fruchtwechsel auf den Gurkenbeeten angeraten, in der Weise, daß man auf die Bepflanzung mit Gurken ein bis zwei Bestellungen mit anderen Gartengewächsen folgen läßt und erst dann wieder zu Gurken übergeht. Th. Kuhlgatz (Berlin).

Peglion, A., Die Kleeseide als Schmarotzerpflanze der Zuckerrübe und des Hanfes. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1906. p. 376.)

Verf. beobachtete das Auftreten von Cuscuta europaea auf Zuckerrüben aus Voghiera (Provinz Ferrara), sowie auf Hanfpflanzen, welche zufälligerweise auf dem betreffenden Rübenfelde wuchsen. Die Blätter der Zuckerrüben, wie die Stengel des Hanfes waren nach jeder Richtung hin von den Fäden der Seide eingeschnürt. Cuscuta europaea ist als eventuelle Schmarotzerpflanze des Hanfes und des Hopfens bekannt, ihr Auftreten auf Zuckerrüben wurde im Jahre 1900 durch Stift zuerst beobachtet, wo sie damals die befallenen Pflanzen in Bezug auf die Entwickelung des Wurzelkörpers und die Höhe des Zuckergehaltes empfindlich schädigte. Wiewohl nun Verf. in dem vorliegenden Falle keine so schweren Beschädigungen der befallenen Pflanzen gefunden hat und auch eine große Ausbreitung der Seide in Zukunft auf Zuckerrüben nicht für besonders wahrscheinlich hält, so empfiehlt er aber doch, daß man mit der größtmöglichsten Sorgfalt die infizierten Herde, welche sich künftig zeigen sollten, zu ersticken suchen muß. Es genügt zu diesem Zwecke, Blätter, Pflanzenstengel, Rübenköpfe, kurz alles, was als Stütze für die Gespinste des Parasiten dient, zu sammeln und zu verbrennen. Die so behandelten Stellen müssen im Auge behalten werden, um jede spätere Ansteckung im Keime zu ersticken. (Aehnliche Bekämpfungs- und Vorsichtsmaßregeln hat bereits Stift angegeben. Weiterhin scheint Peglion eine im Jahre 1906 veröffentlichte Mitteilung von Stift über das Auftreten der Kleeseide auf Zuckerrüben, die ihm weitere, neue Gesichtspunkte eröffnet hätte, unbekannt geblieben zu sein. Der Ref.). Stift (Wien).

Ducamp, L., Une nouvelle plante nourrice pour l'Orobanche hederae Duby. (Comptes rendus Assoc. franç. avance. sciences. Cherbourg 1905. p. 462–463. 1 fig.)

Verf. hat im botanischen Garten in Lille die Orobanche hederae auf Aralia Sieboldi wachsen sehen; die parasitierende Pflanze

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

saß mit drei Wurzeln auf der Wirtspflanze. Den Grund für diesen Parasitismus sieht er darin, daß die Treibhauspflanzen jedes Jahr im Sommer neben eine Einfassung von Epheu gesetzt werden, der Orobanche hederae als Wirt dient. Houard (Paris).

Wilhelmj, A., Eine eigenartige Rübenkrankheit. (Zeitschr. des Vereins der deutschen Zuckerindustrie. 1907. p. 423.)

Es handelt sich hier um eine Rübenkrankheit, welche im Englischen als „Beet Blight“ (Rübenmeltau) bezeichnet wird und über die Linhart im Jahre 1901 unter dem Titel „Die kalifornische Rübenkrankheit“ berichtet hat. Die Krankheit äußert sich darin, daß die erkrankten Rüben im Wachstum zurückbleiben, wobei sich das erste Symptom des gehinderten Wachstums zeigt, wenn die Rüben 6—8 Blätter haben. Die kranke Rübe zeigt fast in allen Fällen die Bildung einer auffallend großen Zahl von Seitenwurzeln, die, dicht neben einander gewachsen, der Rübe ein bärtiges Aussehen geben. Die Blätter der Rübe schrumpfen zumeist zusammen, werden gelb, ohne jedoch im eigentlichen Sinne einzutrocknen, was erst bedeutend später geschieht; oft bleiben die Blätter grün, sind jedoch dann bedeutend dunkler gefärbt und stark gekräuselt. Im Durchschnitt erscheint das Rübenfleisch einer kranken Rübe dunkel gefärbt, in der Form von konzentrischen Ringen, und aus dem Gewebe, insbesondere aus den Gefäßen, tritt ein dunkler Saft hervor, der an der Luft in kurzer Zeit wie Tinte wird und stark bitter schmeckt. Manchmal ist nur der Wurzelschwanz schwarz gefärbt, der übrige Rübenkörper erscheint hingegen noch ungefärbt, oder die dunkle Färbung des Rübenkörpers erstreckt sich nur zum Teil in den Rübenkörper, oder endlich der ganze Rübenkörper erscheint dunkel gefärbt. Daneben gibt es auch kranke Rüben, bei denen der Wurzelkörper nicht dunkelgefärbt erscheint, aber alle haben dasselbe Merkmal, nämlich daß sie hart sind und sich oft schwer durchschneiden oder schnitzeln lassen. Mit dieser Krankheit, die für den Zuckerrübenbau Kaliforniens eigentümlich ist, hat sich schon eine stattliche Reihe von Forschern beschäftigt, ohne daß es bis jetzt gelungen wäre, die Ursache der Krankheit in bestimmter und jeden Zweifel ausschließender Weise festzustellen. Die Forscher selbst sind unter sich uneinig und jeder kommt zu einem anderen Urteile. Zur Klarlegung der Sachlage hat sich Verf. seit Januar 1906 eingehend mit dieser Krankheit beschäftigt und hierbei nicht nur den Bodenverhältnissen, sondern auch der chemischen Zusammensetzung der kranken Rüben seine besondere Aufmerksamkeit zugewendet. Es wurde bei den kranken Rüben eine ganz ungeheure Menge an Aschenbestandteilen konstatiert; gegenüber gesunden Rüben hat sich die Kalimenge verdoppelt, die Menge der Tonerde versiebenfacht und die Menge der Kieselsäure sogar verfünfzehnfacht, Verhältnisse, die es nicht verwunderlich erscheinen lassen, daß die kranken Rüben hart sind und bald zu Grunde gehen, da eben die in ihnen abgelagerten Stoffe jeden regelmäßigen Kreislauf der physiologischen Vorgänge verhindern. Alle Böden in Kalifornien enthalten bis auf den heutigen Tag mehr oder weniger lösliche Salze, die von den Rüben aufgenommen werden können. Werden nun die Rüben in trockenen Boden gepflanzt, so nehmen sie beim Suchen nach Feuchtigkeit diese Salze auf, die sie nicht wieder ausscheiden können. Dabei wird nur ein langsames Wachsen der Rüben beobachtet. Fällt nun eine größere Menge Regen, so bildet sich eine große Anzahl Seitenwurzeln, durch die das Wasser begierig aufgesaugt wird. In diesem Falle werden dann die physiologischen Vorgänge in kürzester Zeit so schädlich beein-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

flußt, daß ein weiteres Wachstum der Rübe unmöglich erscheint und die Pflanze an der „Blight“ erkrankt. Im Falle kein Regen fällt, gehen die Krankheitserscheinungen langsamer vor sich. Das eigentliche Kennzeichen der „Blight“ ist in einer anormalen Aschenzusammensetzung zu erblicken. Als erstes äußeres Anzeichen der Blighterkrankung mag in manchen Fällen eine schwarz gefärbte Wurzelspitze im ersten Lebensstadium gelten, die jedoch vom eigentlichen Wurzelbrand vollständig verschieden ist. Diese schwarze Wurzelspitze kann nur als das erste Zeichen einer gestörten Lebensfunktion aufgefaßt werden. Sind die Rüben noch sehr jung, so erholen sie sich bei Regen wieder, wachsen oberhalb der schwarzen abgestorbenen Wurzelspitze weiter, geben jedoch nie eine große Ausbeute, weil die Wurzel nicht mehr in die Tiefe wachsen kann. Zur Vermeidung der „Blight“ hat man nun zu sorgen, daß den Rüben während ihrer ersten Wachstumsperiode genügend Feuchtigkeit zu Gebote steht, sei es durch Regen oder durch Bewässerung der Felder. Ferner wird es sich darum handeln, eine Schnellmethode zu schaffen, bei der man mit Sicherheit sagen kann, ob die Rüben Anlage zu der Krankheit haben oder nicht. Ferner muß durch praktische Feldversuche festgestellt werden, wie viel Feuchtigkeit die Rüben überhaupt gebrauchen in ihren einzelnen Stadien des Wachstums, und zwar unter besonderer Berücksichtigung des Klimas. Es müssen also ausgedehnte Irrigationsversuche angestellt werden und zwar nicht nur mit verschiedenen Mengen Wasser, sondern auch in allen möglichen Entwickelungstadien der Rüben. Ausgedehnte Aschenanalysen der so behandelten Rüben werden dann wirklich einen Anhaltspunkt geben, inwieweit eine Bewässerung von Vorteil für die gezogenen Rüben ist. Die „Blight“ ist deshalb eine eigenartige Krankheit, weil ihre Erscheinungen die Folge einer an sich für die kalifornischen Böden natürlichen Ursache sind und die Krankheit erst dann ausbricht, wenn klimatische Umstände sie dazu zwingen.

Stift (Wien).

Soukup, J., Schoßrüben und Tradition. (Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. 1907. p. 46.)

Es wurde die Beobachtung gemacht, daß im Jahre 1906 trotz Rauhreif, kalter Nächte und bis in die Mittagsstunden hinein andauerndem Frost gerade zur Zeit des Quellens und Aufkeimens des Rübensamens nur sehr wenig Schoßrüben Ende Oktober zu sehen waren und die Rübenfelder also, trotz der andauernden Spätfröste, ihr normales Aussehen behielten. Da Verf. ähnliche Beobachtungen auch in früheren Jahren gemacht hat, so können ungünstige Witterungsverhältnisse, hier Frost, zur Zeit des Auflaufens der Samen nicht als Ursache des eventuellen Aufschießens herangezogen werden, um so mehr als ihn vieljährige Beobachtungen gelehrt haben, daß in Jahrgängen mit viel Schoßrüben auch die später angebauten und frostfrei gekeimten Zuckerrüben, also ohne Verkühlung oder Verkältung, Samentriebe bildeten. Soukup ist nun, wie seinerzeit Rimpau, der Ansicht, daß die Ursache der Erscheinung in einer inneren Disposition liegen müsse, die jedesmal in dem Jahrgange der Samenproduktion zu suchen sei. Für die Richtigkeit der Rimpauschen Annahme spricht schon der vielfach übersehene Umstand, daß die Abstammung der Zuckerrübe von der an den Gestaden des Mittelmeeres wildwachsenden und einjährigen Form hergeleitet wird. Hierin liegt die Prädisposition zum Rückschlag aus der zweijährigen Kulturform in die Form des Urzustandes, wie ferner ein eklatanter Fall des Rückschlages auch das Hervortreten der roten Färbung bei aus der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vilmorinzucht abstammenden weißen Rübenvarietät ist, nämlich der Rückschlag auf die rote, französische Stammform. Zur Bekämpfung des Aufschusses muß nun verhindert werden, daß durch Insekten eine Kreuzung der Kulturpflanzen mit deren Rückschlagsform stattfindet. Fällt die Blütezeit beider Formen zusammen und wird nun diese und der Insektenflug durch andauernd sonniges Wetter begünstigt, dann muß der Same der Kulturpflanze aus solchen Jahrgängen die Eigenschaften der zeugungskräftigeren Rückschlagsform bekommen, so daß der Rückschlag da ist. Gelangt ein solcher Same zum zeitigen Anbau, so wird der Rückschlag zum Phänomen, auch ohne Kälte. Das bis zum Ende fortgesetzte Absicheln der Schoßtriebe, speziell in der Nähe der Zuchtstationen, ist daher ein Gebot für alle Rübenbauer, auf dessen Befolgung strenge gesehen werden sollte. Insolange man dem nicht Rechnung trägt, wird es Schoßrüben geben. Stift (Wien).

v. Faber, Ueber den Pustelschorf der Rüben. (Arbeiten aus der Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. Heft 6.)

Nach Beschreibung des äußeren Krankheitsbildes, dem in allen Fällen durch vollständige Ausheilung ein Ziel gesetzt wird, geht Verf. auf die Anatomie des Pustelschorfs ein, aus der hervorzuheben ist, daß die von Frank unterschiedenen Formen des Buckel- und Tiefschorfes lediglich durch die Art und Weise, in der die Regeneration der Gewebe vor sich geht, entstehen. Als Erreger wird dann Bacterium scabiegenum festgestellt und näher charakterisiert. Die Entstehung des Pustelschorfs ist an die Lenticellen gebunden, diese dürften jedoch nur in einem gewissen Stadium für die Infektion empfänglich sein. Feuchtigkeit begünstigt das Auftreten der Krankheit vielleicht.

Ehrenberg (Breslau).

Komers u. Freund, Die Wertbestimmung des Rübensamens. (Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1906. Heft 6.)

Nach ausführlicher Behandlung der für die Wertbestimmung des Rübensamens besonders in Betracht kommenden Untersuchungsverfahren, wie Probeentnahme, Bestimmung von Wassergehalt, Reinheit und Keimfähigkeit, wird auf die Begutachtung des Rübensamens in Bezug auf kranke Keime eingegangen.

Verff. vertreten hier die Ansicht, daß die verschiedenen als Wurzelbranderreger angesehenen Mikroorganismen, wie Phoma betae, Pythium de Baryanum, Rhizoctonia violacea, Pseudomonas campestris, endlich Bacillus subtilis, liquefaciens, fluorescens liquefaciens, mesentericus vulgaris und mycoides keinesfalls als allein maßgebende Ursache des Wurzelbrandes anzusehen sind. Die Sache liegt vielmehr so, daß erst im Freilande durch Hemmung des Entwickelungsprozesses oder Schwächung der Keimlinge durch ungünstige Wachstumsverhältnisse den stets vorhandenen Wurzelbranderregern Gelegenheit zu erfolgreichem Angriff gegeben wird. — Nachdem sie dann noch auf die bei Keimversuchen mit Rübenknäueln mögliche Infektion und Schädigung durch Mucor racemosus hingewiesen, stellen die Verff. den Satz auf, daß es sich bei der Wertbestimmung des Rübensamens als Saatgut nicht um die Feststellung handeln wird, ob Krankheitskeime vorhanden sind oder nicht, sondern vielmehr darauf ankommt, wieviel Keime selbst unter den günstigsten Bedingungen des Keimbettes sich nicht zu behaupten vermögen und daher im Freilande sicher eingehen werden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weiter weisen sie darauf hin, daß das Auftreten vereinzelter kranker Keime, bis etwa 4—5 Proz., beim Keimversuche noch kein Kriterium für einen zu Saatzwecken nicht geeigneten Rübensamen ist. Doch ist in der über diesen Grenzwert hinausgehenden Anzahl von kranken Keimen annähernd ein Maßstab für die durchschnittliche relative Widerstandsfähigkeit des Samens geboten. Nicht durch die Imprägnation und Desinfektionsverfahren, sondern nur durch Einbeziehung dieses Momentes der durchschnittlichen relativen Widerstandsfähigkeit des Samens in das Ausleseverfahren der Rübensamenzüchtung kann dem Uebel des Wurzelbrandes wirkungsvoll gesteuert werden, allerdings nur soweit, als die Güte des Samens selbst einer der vielen Faktoren des Wurzelbrandes ist.

Es folgen dann Studien über die Wertbeurteilung des Rübensamens.

Ehrenberg (Breslau).

Giard, A., La Teigne de la Betterave (Lita ocellatella Boyd). (Comptes Rendus Acad. des Sciences. Paris. T. CXLIII. 1906. p. 627—630.)

Der Verf. stellt zuerst den Namen des Parasiten der Runkelrübe fest (Lita ocellatella und nicht Loxostege sticticalis), den er in einer früheren Mitteilung angegeben hatte. Er gibt dann eine eingehende Beschreibung dieses Parasiten, der 1875 von Mabille in der Umgegend von Paris, von Rouast in Lyon, von Wollaston in Porto Santo und von Boyd an der Küste von Cornwall gefunden worden ist. Und trotzdem ist dieser Parasit der Runkelrübe 30 Jahre verkannt worden und hat nicht einmal in den neuesten Arbeiten Erwähnung gefunden, die sich mit den der Landwirtschaft schädlichen Insekten beschäftigen.

Houard (Paris).

Falck, Ueber den Hausschwamm. (Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. LV. 1906. p. 478.)

Nach kurzen Angaben über die verschiedenen Standorte des Hausschwammes stellt Verf., der ausschließlich auf Grund eigener Untersuchungen berichtet, die äußerst wichtige Tatsache fest, daß die natürlich im Freien vorkommenden Hausschwammpilze einerseits und die aus Häusern entnommenen andererseits zwei völlig verschiedene Arten vorstellen. Der bisherige Merulius lacrymans Schum. ist daher in zwei neue Arten aufzulösen.

Die eine von diesen, Merulius domesticus, der eigentliche Hausschwamm, hört bei über 27° liegenden Wärmegraden auf zu wachsen und hat sein Optimum zwischen 16 und 22°. Der Merulius silvester dagegen wächst noch bis etwa 34°, während für ihn die optimale Wärme 22—24° beträgt. Verf. stellt nun dazu in Beziehung, daß die in Betracht kommenden Temperaturen der verschiedenen Standorte diesen Wärmegraden, an die sich der Pilz als angepaßt erweist, völlig entsprechen; so kommt z. B. als maximale Temperatur des Durchschnittswohnhauses, an das Merulius domesticus angepaßt ist, 27—26° in Betracht, entsprechend der Wachstumsgrenze dieses Schädlings, die bei ca. 27° liegt. Der optimalen Wärmezone des hausbewohnenden Pilzes von 16—22° entspricht die mittlere Tages- und Jahreswärme des Hauses von 17—23°.

Bezüglich Infektion und Prophylaxe stellt Verf. fest, daß die Weiterverbreitung der Krankheit an das erkrankte Haus gebunden ist. Die von den Schwammfruchtkörpern eines einzigen befallenen Hauses verbreiteten Sporenmengen sind ganz außerordentlich groß. Man wird daher

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

annehmen können, daß, wenn nur ein geringer Prozentsatz von schwammkranken fruktifizierenden Häusern vorhanden ist, die Luft in den Städten die Sporen des Pilzes überall enthalten kann. Abgetötet wird der Pilz bereits durch sehr niedrige Temperaturen. Bereits 34° zerstören denselben nach viertägiger Einwirkung, bei 40° sind nur noch 60 Minuten erforderlich. Diese große Wärmeempfindlichkeit wird denn auch die Möglichkeit einer Befreiung der Häuser an die Hand geben, wogegen 1 Proz. Kupfersulfat-, Zinksulfat- und Bleiazetatlösungen Holz in keiner Weise zu schützen vermögen und sogar gegen Sublimat sich eine auffällige Unempfindlichkeit des Pilzes zeigt. Verf. gibt denn auch am Schluß seiner Abhandlung, die nur eine vorläufige Mitteilung aus einem im laufenden Jahre erscheinenden größeren Werk über den Hausschwamm darstellt, der Ansicht Ausdruck, daß man ein natürliches Heilmittel zur Beseitigung des Schwammes in befallenen Häusern besitzt, falls es gelingt, dem Hause oder Teilen desselben die verhältnismäßig niedrigen Temperaturen von 36—40° kürzere Zeit durchweg zu erteilen.

Ehrenberg (Breslau).

Kempski, E., Ueber endozoische Samenverbreitung und speziell die Verbreitung von Unkräutern durch Tiere auf dem Wege des Darmkanals. (Rostocker Inaugural-Dissertation.) Bonn 1906.

Die Arbeit interessiert an dieser Stelle deshalb, weil den Feststellungen des Verf. zufolge durch Aufnahme der Unkrautsamen von seiten der Tiere zwar die Verbreitung des Unkrauts gefördert werden kann, dabei aber ein großer Teil der Samen durch den Verdauungsprozeß zerstört wird. Von 21 Unkrautsamenarten, welche an 2 Hammel, 2 Kühe, 2 Hühner, 3 Tauben, 2 Wachteln, 1 Nebelkrähe, 1 Lerche, 2 Buchfinken und 2 Bergfinken verfüttert wurden, erwiesen sich nämlich die meisten als durch das Passieren des Darmkanals in ihrer Keimfähigkeit stark herabgesetzt (bei einigen, z. B. bei der Kornblume, wird die Keimfähigkeit ganz vernichtet), nur in ganz wenigen Fällen wird die Keimfähigkeit gefördert (bei Lithospermum-Samen durch Verfütterung an Wachteln, bei Raphanus-Samen durch Verfütterung an Schaf und Rind). Außer der Herabsetzung der Keimprozente bewirkt die Aufnahme durch die betreffenden Tiere die völlige Zerstörung eines großen Teils der Samenkörner, indem nur ein Teil derselben der Verdauung widersteht. Die Finken zerstörten alle von ihnen aufgenommenen Samen gänzlich (Ausnahme Rumex acetosella, hiervon gingen 0,2 Proz. wieder ab), bei Taube, Wachtel und Huhn gehen von einigen Samenarten zwar ganz geringe Mengen unzerstört wieder ab und sind noch keimfähig, dennoch stellen sich diese Tiere in unverhältnismäßig höherem Grade als Unkrautvertilger denn als Unkrautverbreiter dar. — Die Keimversuche führte Verf. in der üblichen Art der Samenkontrolle aus.

Der Darstellung der mit großer Exaktheit durchgeführten Untersuchungen geht eine sehr dankenswerte Uebersicht über die bisher bekannten Einzelheiten der endozoischen Samenverbreitung voraus, sowie die Resultate einer Umfrage an Fachgenossen. Man ersieht aus der Literaturübersicht, daß die bisherigen Kenntnisse auf diesem Gebiete (abgesehen von der Unkrautvertilgung durch Finken) ziemlich geringe und wenig verbürgte waren, so daß die vorliegende Bearbeitung dieser Fragen eine sehr verdienstvolle ist.

K. Friederichs (Tübingen).

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jacobi, A., Grundriß der Zoologie für Forstleute. Ergänzungsband zu Loreys Handbuch der Forstwissenschaft. Mit 441 Abbild. Tübingen (H. Laupp) 1906. 7,50 M.

Das Buch ist kein Lehrbuch der Forstzoologie, sondern der „Zoologie für Forstleute", d. h. es behandelt die forstzoologisch wichtigen Tiergruppen zwar ausführlicher als die anderen, jedoch nicht vom Standpunkt des Forstschutzes. Dies hat seinen Grund darin, daß es bestimmt ist, als Ergänzungsband zur 2. Auflage von T. Loreys Handbuch der Forstwissenschaft zu dienen, in welchem über Forstschutz, Fischerei etc., vieles bereits vorweggenommen worden ist, und der Verf. hat hieraus Veranlassung genommen, sich darüber kürzer zu fassen. Der Grundriß ist, wie der Verf. in seinem Vorwort äußert, geeignet, zusammen mit den Büchern von Nüsslin (für Insekten) und Eckstein (für Wirbeltiere) als deren wünschenswerte Ergänzung benutzt zu werden. Es ist indessen dagegen einzuwenden, daß man nach dem Titel des Buches erwartet, daß dasselbe eine Gesamtdarstellung der Forstzoologie enthalte.

Bezüglich der Einzelheiten fiel dem Ref. an der Darstellung der niedrigsten pterygoten Insektenordnung auf, daß Isoptera mit „Termiten" verdeutscht wird, und daß die darunter gegebene Definition nur auf die Termiten paßt. Es heißt darin „. . . . Flügel mit Brustfalte am Grunde, an der sie nach der Begattung abgeworfen werden . . . . . Meistens staatenbildende Insekten mit reichem Polymorphismus". Dies trifft doch auf die zweite Gruppe der Isoptera, die Embidina, nicht zu. Auch ist es nicht angängig, die verwandten, aber recht verschiedenen Termitina und Embidina als „Termiten" zusammenzufassen. — Bei der Familie Silphidae, Aaskäfer, ist nur die nekrophage und karnivore Ernährungsweise erwähnt, die vegetarischen Gewohnheiten mehrerer Arten, die dadurch landwirtschaftlich und auch für den Forstmann wichtiger sind als jene anderen, hätten Erwähnung finden sollen. — Die Darstellung, welche die Huftiere gefunden haben, ist nur wenig geeignet zur Einführung in die Kenntnis dieser für das Verständnis der Descendenz und damit der Verwandtschaft der Tierformen so wichtigen Gruppe zu dienen. Die Unpaarhufer sind an den Anfang des Abschnittes gestellt, die Rüsseltiere kaum erwähnt. — Druck und Papier sind gut, ebenso die Reproduktion der sehr zahlreichen Abbildungen, von denen zwei Originalfiguren sind. K. Friederichs (Berlin).

Rübsaamen, Ew. J. H., Ueber Bildungsabweichungen bei Vitis vinifera L. und auf dieser Pflanze lebende Cecidomyiden. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiologie. Bd. II. (XI.) p. 129—137, 185—198, 225—237. Mit 42 Abbild.)

Rübsaamen gibt zunächst eine Uebersicht über die im Laufe einiger Jahre bekannt gewordenen Bildungsabweichungen der Blätter der Weinrebe und bespricht die Literatur über abnorme Bildungen an anderen Teilen der Pflanze. Bildungsabweichungen sind bei Vitis vinifera sehr häufig, wogegen zur Gallenbildung geringe Neigung besteht. Ausführlich behandelt wird vom Verf. die Blütenvergrünung (Chloranthie), eine Umwandlung des Gynoeceums und Androeceums in blütenblattartige Gebilde, verbunden mit starker Vermehrung der Wirtel und Verlängerung, oft mit Verzweigung der Blütenachse. Daß diese Bildungen durch Milben hervorgerufen werden, wie behauptet worden ist, hält R. nicht für erwiesen, wohl aber daß solche Erscheinungen durch Milben hervorgebracht werden können, andererseits daß

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Chloranthie nicht immer durch einen tierischen Angriff verursacht wird. Auch bezüglich weiterer sodann beschriebener Mißbildungen der Blüten, bei welchen in manchen Fällen das gleichzeitige Auftreten von Gallmücken in denselben vom Verf. beobachtet wurde, hält er die Frage nicht für spruchreif, ob diese Parasiten die Ursache der betreffenden Bildungsabweichungen sind. Letztere bestehen im einfachsten Falle nur in einer Vergrößerung des Fruchtknotens unter Verkümmerung der Staubgefäße, im höchsten Grade der Anomalie in einer so starken Umbildung und Vermehrung der Blütenteile, daß die Deutung der einzelnen Organe kaum noch möglich ist. „Meist tritt eine starke Vermehrung der Karpelle ein, die dann fast regelmäßig mit den hochgradig deformierten Staubgefäßen verwachsen, untereinander aber zuweilen eine nur sehr unvollkommene Verwachsung eingehen.“ Es ist nun dem Verf. gelungen, in solchen Blüten vorkommende Gallmücken zu züchten, und er beschreibt die betreffende bisher nicht bekannte Art als Contarinia viticola. Als Parasit der Cecidomyide wird die Schlupfwespe Inostemma (bosci Halid?) genannt. Es folgen die Beschreibungen weiterer auf der Rebe lebender Gallmücken, welche jedoch diese nicht angreifen, sondern mykophag oder zoophag sind. Zu diesen rechnet R. im Gegensatz zu ihrem Autor Clinodiplosis vitis Lüstner. In faulen Beeren lebt ferner eine weitere Clinodiplosis-Art, acinorum n. sp. und eine Lestodiplosis parricida n. sp. genannte Art, diese jedoch als Parasit an den Larven der beiden erstgenannten. Von der Milbe Eriophyes vitis lebt Arthrocnodax vitis Rübs. Zuletzt wird Mycodiplosis plasmoparae, ebenfalls eine neue Form, beschrieben, welche sich als Larve dadurch nützlich macht, daß sie von dem Pilz Plasmopara (Peronospora) viticola lebt. — In 42 ausgezeichneten Abbildungen werden die beschriebenen Gallmücken und die Bildungsabweichungen dargestellt. K. Friederichs (Tübingen).

Scalia, G., Acarosi della vite. (Sep. aus Nuova Rassegna. 1906. 16 pp.)

Bei einer unangenehmen Suberose oder Korksucht der Weinbeeren sind die beinahe reifen Beeren schmutzig-weißlich oder gräulich und mit polyedrischen Korkplatten besetzt, deren Saum etwas erhoben ist. Später verholzen solche Platten und eine noch stärkere Verkorkung trifft Fruchtstiele und Reben. Auf den kranken Teilen fand Verf. Glycyphagus spinipes, eine Milbe, die meist in der Beerengrundfurche verborgen lebt. E. Pantanelli (Rom).

Vogler, P., Zoocecidien von St. Gallen und Umgebung. I. Teil. (Jahrbuch der St. Gallischen naturwissenschaftl. Gesellschaft für das Vereinsjahr 1905. St. Gallen 1906. p. 311—342.)

Erste Zusammenstellung der bisher in dem Kanton gesammelten Zoocecidien. Es sind 140 Gallenarten, von denen 4 bis jetzt nicht im Vereinsgebiet gefunden wurden. Matouschek (Reichenberg).

Kirkaldy, G. W., Leaf-Hoppers-Hemiptera. — Leaf-Hoppers and their natural enemies. Pt. IX. (Report of work of the Experiment Station of the Hawaiian Sugar Planters' Association. Division of Entomology Bull. No. 1. Part 9. p. 267—479. Pl. XXI—XXXII. Honolulu 1906.)

Die Zuckerpflanzer auf Hawaii haben eine Versuchsstation gegründet mit einer unter der Leitung von R. C. Perkins arbeitenden entomolo-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

gischen Abteilung, deren Aufgabe die Erforschung und Bekämpfung der schädlichen Insekten ist. Ein solches Vorgehen überall da, wo nicht etwa entsprechende Staatsinstitute bestehen, kann für Ackerbau treibende Kolonieen nur angelegentlichst zur Nachahmung empfohlen werden. Notwendige Voraussetzungen für den Erfolg sind allerdings ein reichliches Maß von Initiative, reichlich zur Verfügung gestellte Geldmittel und eine praktische, von Bureaukratie freie Organisation. Diese Voraussetzungen scheinen für die „Experiment Station of the Hawaiian Sugar Planters' Association“ in glücklicher Weise gegeben zu sein. Die seit kurzem in rascher Folge herausgegebenen Berichte ihrer „Division of Entomology“ bringen eine Fülle praktisch verwertbarer und zugleich wissenschaftlich wertvoller biologischer und systematischer Studien über pflanzenparasitische Insekten. Als Beispiel greifen wir hier den Part 9 von Bulletin No. 1 heraus, in welchem sich Herr G. W. Kirkaldy, Assistant Entomologist, in ausführlicher Weise mit den „Leaf-Hoppers-Hemiptera“ beschäftigt. Der Verf. gibt uns über diesen Gegenstand ein Büchlein von über 200 Seiten mit nicht weniger als 12 Tafeln.

Der Schaden, den die Hemipteren anrichten, besteht einmal im Entziehen von Säften durch Aufsaugen mittels des bekannten, aus 4 Borsten zusammengesetzten Stech- und Saugapparates, dann aber vielfach auch indirekt darin, daß sich an den so verletzten Pflanzenteilen parasitische Pilze ansiedeln, die sich stark vermehren, in die Gewebe eindringen und die Pflanze zum Kränkeln und Eingehen bringen. Besonders schädliche und berüchtigte Pflanzenparasiten sind unter anderen Blissus leucopterus, Dysdercus suturellus, Helopeltis antonii, die Gesamtheit der Aphiden, der Aleyrodiden sowie der Cocciden, auch der von Kirkaldy beschriebene Zuckerrohrschädling Perkinsiella saccharicida.

Verf. schätzt den jährlichen Schaden allein von Hemipteren für die gesamte Kulturwelt auf mindestens 600 Millionen Dollars. Erklärlich wird dieser ungeheure Schaden unter anderem durch die außerordentliche Fruchtbarkeit, durch die sich diese Insekten durchweg auszeichnen. Nützlich sind nur wenige Hemipteren, und der Nutzen selbst dieser wenigen Arten ist vielfach nur ein fragwürdiger. So vertilgen die von anderen Insekten lebenden Reduviden oft genug auch nützliche Insekten. Z. B. saugt Zelus peregrinus nicht nur die schädliche Perkinsiella aus, sondern auch die durch Vertilgung schädlicher Insekten nützliche Coccinella. Gewisse Cocciden secernieren Wachs, das im Handel verwertbar ist, andere produzieren Farbstoffe, deren technische Brauchbarkeit allerdings der Vergangenheit angehört. Manche Wasserwanzen dienen Stubenvögeln oder in manchen Gegenden sogar Menschen zur Nahrung.

Die Bezeichnung „Leaf-Hoppers“ schließt unter den Rhynchoten sämtliche Homoptera Anchenorhyncha ein mit Ausnahme der Cicadidae, der großen Singzirpen. In einem der Biologie der Leaf-Hoppers-Rhynchoten gewidmeten Kapitel (p. 273—286) bespricht Verf. 1) den Lebenslauf dieser Tiere, also Eiablage und Metamorphose; 2) die Flugorgane; 3) die Brutpflege — kurze Notiz für eine Membracide, Entylia sinuata, die ihre Nachkommen bewacht; 4) die Stridulation, das Zirpen, nur beobachtet bei Perkinsiella saccharicida, doch ohne daß man es bisher auf bestimmte Organe mit Sicherheit hätte zurückführen können; 5) die Beziehungen zwischen den Leaf-Hoppers und Ameisen. Besondere Berücksichtigung findet die jüngst aufgestellte

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gattung Perkinsiella Kirk. (vergl. Entomologist. Vol. XXXVI. 1903. p. 179). — Ein weiteres Kapitel (p. 287—309) erörtert die systematische Stellung und Klassifikation der Leaf-Hoppers. Verf. gibt zunächst eine Uebersicht über frühere Systeme und stellt alsdann für die Auchenorhynchi Am. Serv. ein modernes System auf, das von den einfacheren Formen ausgeht und allmählich zu den spezialisierteren Formen fortschreitet. Dieses Kapitel enthält außerdem eine Einführung in den äußeren Bau der Tiere, wobei besonders auf das für die Diagnose so wichtige Flügelgeäder eingegangen wird, und ferner eine kritische Beleuchtung früher aufgestellter Systeme. — Es folgen nun zwei Verzeichnisse (p. 310—317) von nicht weniger als 213 neuen Arten, worunter viele neue Gattungen, sowie von 32 bereits bekannten Arten, gesammelt in Queensland, Neusüdwales und auf Viti von Koebele, Consulting Entomologist der Station, sowie Perkins. Hieran schließt sich dann der Hauptteil der Arbeit (p. 317—467), welcher der Beschreibung der Gattungen und Arten gewidmet ist. Den Beschluß macht eine Uebersicht über die wichtigste in Betracht kommende Literatur (p. 468—475) und eine Tafelerklärung (p. 475—479). Th. Kuhlgatz (Berlin).

Vosseler, J., Die Wanderheuschrecken in Usambara im Jahre 1903/1904, zugleich ein Beitrag zu ihrer Biologie. (Berichte über Land- und Forstwirtschaft in Deutsch-Ostafrika. Bd. II. Heft 6. p. 291—374. Mit 2 Textfig. u. 2 Taf.).

Die Wanderheuschrecke, Schistocerca peregrina, auf dem afrikanischen Kontinent von Norden bis Süden verbreitet, ist seit alters auch in Deutsch-Ostafrika gefürchtet. Vosseler will mit dieser Arbeit eine Grundlage schaffen für die rationelle Bekämpfung dieser Landplage. Er geht dabei von der richtigen Voraussetzung aus, daß die Maßnahmen hierzu in erster Linie beruhen müssen auf einem möglichst eingehenden Studium der Biologie und des Entwickelungsganges der Tiere, und zwar in der Kolonie selbst; denn was man aus Nord- und Südafrika von dem Lebensgang der Tiere kennt, erleidet begreiflicherweise in unserer rein tropischen Kolonie in wichtigen Daten Modifikationen. Der Lebensgang solcher Tiere zeitigt je nach Klima und Bodenbeschaffenheit wichtige Abweichungen. Schwärme von Schistocerca, die im Jahre 1903 in Usambara und im Bondeilande niedergingen, ermöglichten dem Verf. dieses Studium. Es gelang eine Klarstellung des Lebensganges ohne wesentliche Lücken von dem Einfall der Mutterschwärme bis zum Aufbruch der Tochterschwärme. Hierbei fiel auch Licht auf manche bisher der Wissenschaft noch unaufgeklärte, außerhalb der direkten praktischen Seite der Frage liegende anatomische und biologische Verhältnisse. Das macht die Arbeit zu einer auch rein zoologisch bedeutsamen. In zweiter Linie verlangt rationelle Bekämpfung persönliche Kenntnis von Land und Leuten, besonders des Charakters der eingeborenen Bevölkerung, auf die man bei dem praktischen Vorgehen gegen die Tiere angewiesen ist. Man kann nicht ohne weiteres Bekämpfungsmethoden, die in anderen Ländern mit intelligenter Bevölkerung, wie in Indien oder Amerika, vielleicht Erfolg hatten, auf Deutschostafrika mit seiner eigenartigen Bevölkerung übertragen. Neben eigenen Erfahrungen und Studien stand dem Verf. auch das von dem Kaiserlichen Gouvernement im Laufe der Zeit gesammelte aktenmäßige Material zur Verfügung, von dem er mit Kritik Gebrauch machte. Die Arbeit beschäftigt sich in Kapitel 1 mit den einfallenden Schwärmen, den Mutterschwärmen, in Kapitel 2 mit

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Eiablage. Kapitel 3 bespricht Eireifung und Auskriechen der Jungen, Kapitel 4 die Eierpakete und die Vorgänge beim Auskriechen, Kapitel 5 die postembryonale Entwickelung der Larven, Kapitel 6 die Tochterschwärme, Kapitel 7 die Wanderungen der Schistocerca. Im 8., besonders ausführlichen, Kapitel folgen dann die Maßnahmen zur Abwehr. Anhangsweise schließen sich Uebersetzungen von Berichten an, die das Kaiserl. Bezirksamt Tanga auf Ersuchen des Verf. von einzelnen eingeborenen Dorfvorstehern als Antworten zu einem amtlichen Fragebogen einholte. Diese Berichte beweisen, daß solche Rundfragen auch bei Eingeborenen keineswegs zwecklos sind, daß die intelligenteren unter den Eingeborenen zu Beobachtungen wohl im stande sind.

Die im Usambaralande einfallenden Schwärme haben nach Vosselers Ansicht ihre Geburtsstätten wahrscheinlich in der Massaisteppe südlich des Kilimandscharo und Paregebirges. Die Schwärme scheinen Urwald zu meiden, dagegen möglichst den Kulturen zuzustreben, bei deren Auffindung ihnen der Gesichtssinn dient. Das Riechorgan kommt hierfür nicht in Betracht; denn sie ziehen mit dem Winde. Der Wanderflug strengt die Tiere offenbar nicht besonders an. Sie sind unmittelbar nach dem Niedergehen sehr lebhaft und scheu. Mit der bekannten Gefräßigkeit fallen sie über Grünzeug aller Art, über Früchte, z. B. Bohnen, Mais, über Gras, allerhand Unkraut her, aber auch über Faserwurzeln, modernde Rinde, Holz gerodeter Büsche. Die in Usambara beobachteten Schistocerca nahmen nachts keine Nahrung. Wenn Vosseler in Algier und Tunis Schistocerca auch nachts fressen sah, so führt er das zurück auf die dortige außerordentliche Dürftigkeit der Vegetation und die Menge der dort tagsüber lauernden Feinde.

Die Gesamtheit der Nachkommen eines niedergegangenen, zur Fortpflanzung gelangten Schwarmes, d. i. eines Mutterschwarmes, wird mit Beziehung zu diesem als „Tochterschwarm“ bezeichnet. Schon im ersten Stadium beginnen die Larven als „Hüpfer“ zu wandern. Sie marschieren in geschlossenem Zuge. 4 Tage alte Larven legten nach Vosselers Messung 1 m in der Minute zurück. Später nimmt die Geschwindigkeit zu. Sind die Tiere flugfähig geworden, so erheben sie sich zu einem neuen fliegenden Wanderschwarm. Doch erfolgt der schwarmmäßige Aufbruch in der Regel nicht eher, als bis sämtliche Heuschrecken flugfähig sind. Früher fertige Individuen bleiben bis zur allgemeinen Reife beim Schwarm und machen nur ab und zu kleine Exkursionen. Ueber die Ursache des Wanderns der Heuschrecken ist nach Vosselers Ansicht bislang nichts Sicheres bekannt. Nahrungsmangel oder ein gewisser Ausdehnungstrieb der Art, die Suche nach guten Brutplätzen, Witterung oder Klima geben keine hinlängliche und unanfechtbare Erklärung.

Bei Weibchen eines am 25. November 1903 in Ostusambara eingetroffenen Schwarmes stellte Vosseler je 40—70 nahezu reife Eier fest. Die Weibchen legen bereits in den nächsten Tagen nach der Ankunft ihre Eier ab. In Mombo, Bulwa und Muhesa konnte Vosseler die von den Muttertieren zur Eiablage ausgewählten Böden näher untersuchen. Die Eier werden abgelegt in Päckchen von je 40—70—80 Stück. Das Heuschreckenweibchen bohrt mit den vier Endklappen des der Länge nach außerordentlich ausdehnungsfähigen Abdomens eine unten etwas erweiterte Höhlung von 6—8 cm Länge in den Erdboden, in welche es die ca. 8 mm langen und 1—1,2 mm breiten Eier in der Regel unregelmäßig, aber mit dem Kopfende der Embryonen nach oben gerichtet, ablegt. Dabei entleert es aus Drüsen seines Genitalapparates eine Kleb-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

substanz zwischen die Eier und zum Schluß aus denselben Drüsen einen schaumigen, schnell erhärtenden Schutzpfropf, der die gebohrte Erdhöhlung während des Herausziehens des Hinterleibes bis oben füllt. Die Dauer der Embryonalentwickelung schätzt Vosseler auf durchschnittlich 16—18 Tage. Trockenheit und andere äußere Einflüsse können den Termin des Ausschlüpfens hinausschieben, wie das auch bei anderen Insekten der Fall ist. Für das Ausschlüpfen besitzt der Embryo der Schistocerca ein Hilfsorgan in Gestalt des Nackenbläschens, einer Erweiterung der Körperhaut im Nacken, die durch Einpressen von Blut bis $^3/_4$ oder 1 mm über den Körperumriß ausgedehnt werden kann, gegen die Eihaut wirkt und diese in einem Längsriß zerreißen macht. Ausgeschlüpft ist der Embryo zunächst noch nicht Herr seiner Extremitäten, noch umhüllt vielmehr eine zarte farblose Eihaut, das Amnion, seinen Körper gleich einem Integument. Wie ein Handschuh umhüllt diese Haut jeden Körperabschnitt, jede Gliedmaße, jede Erhabenheit der Hautoberfläche mit Ausnahme der ersten vier Fühlerglieder für sich. So bleibt das Junge vorläufig noch wurmförmig ohne freien Gebrauch der noch weichen Extremitäten und bahnt sich nach einer kurzen Ruhepause seinen Weg mit Hilfe seiner Hautmuskulatur und seiner Nackenblase an die Erdoberfläche. Vosseler konnte weiter beobachten, wie sich das Tier aus dem Amnion befreit und wie seine Organe funktionsfähig werden. Jetzt erst haben wir eine freibewegliche Larve im üblichen Sinne vor uns. Es folgt der Ausfärbungsprozeß, die Nahrungsaufnahme des Hüpfers beginnt. Das Tier macht im ganzen fünf Häutungen durch, aus deren letzterer die reife, mit ausgebildeten Flügeln versehene Heuschrecke hervorgeht. Zur Physiologie dieses Wachstumsprozesses macht Vosseler darauf aufmerksam, daß man aus den in Intervallen erfolgenden Häutungen, die ein ruckweises Wachstum vortäuschen, keineswegs auch auf ein wirklich ruckweises Wachstum des Hüpfers schließen darf. Vielmehr geht nicht nur hier, sondern auch bei den Insekten im allgemeinen das Wachstum einen viel ruhigeren, stetigeren Gang, als man vielfach annimmt. Jede Insektenhaut ist dehnbar, und speziell nach jeder Häutung verfügt das Insekt über weichhäutige Falten zwischen den Leibessegmenten. Es wächst innerhalb dieser dehnbaren Körperhülle beständig und legt die für die nächste Stufe nötigen Organteile an. Unter der bisherigen Körperbedeckung, die nichts weiter ist als eine verhältnismäßig dünne Cuticula, bildet sich bereits eine neue, zunächst noch weiche Cuticula vor. Auch rein äußerlich findet zwischen zwei Häutungen noch ein merkbares Wachstum des Körpers statt. Erst wenn die alte Cuticula auf das äußerste gespannt ist und den Körper einzuengen beginnt, wird sie gesprengt und das Tier tritt in die Häutung ein. Die Dauer der postembryonalen Entwickelung der Schistocerca schätzt Vosseler je nach dem Ort der Entwickelung auf rund 50 oder 60—70 Tage. Ihr Verlauf wird auf Grund intensiver Beobachtungen eingehend dargestellt. Auch hier wird eine Fülle wissenschaftlich wertvoller Ergebnisse der Oeffentlichkeit übergeben. Abgebildet werden: ein Schistocerca-Weibchen mit zur Eiablage gestrecktem Abdomen; Eihäufchen mit Schaumpfropf; Eier im Alter von 12 Tagen; Struktur der Eihaut; frisch ausgeschlüpfter Embryo; etwas älterer Embryo; Abstreifung des Amnionhäutchens; Larve des ersten Stadiums; Larve am Ende des ersten Stadiums; Brustsegmente 2 und 3 des zweiten Stadiums; Flügelentwickelung im vierten sowie im fünften Stadium. Ferner farbig: die fünf Larvenstadien, ausgefärbt; geflügelte Insekten in Rosafärbung,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in Braunfärbung, in Gelbfärbung; Färbung des fünften in Gefangenschaft erzogenen Stadiums; Färbung einer jungen Imago aus der Gefangenschaft; Fetttropfen aus dem Fettgewebe weiblicher Schistocerca.

Unter den vielerlei Maßnahmen, die man zur Abwehr der Heuschrecken ergreifen kann, hält Vosseler zur Ausübung durch die Eingeborenen Deutsch-Ostafrikas vorerst nur die mechanischen für geeignet: Vernichtung der Eier durch Umgraben, Umpflügen des Bodens, Uebergießen mit heißem Wasser, Eintreten in die Erde; Erschlagen der Larven mit Ruten, Treiben der Larven in Gräben, Vertreiben und Töten der Einfallschwärme durch Lärmen, Rauch von Qualmfeuern, Scheuchmittel; Verbrennen und eventuell Fangen. Aber auch diese nur dann, wenn sie mit den allereinfachsten Vorrichtungen ausgeführt werden können. Unter der Leitung von Europäern können die Schwarzen auch zur Anwendung von chemischen Mitteln herangezogen und unterwiesen werden: Vergiften des Futters; Auslegen vergifteter Lockspeisen mit innerlich wirkenden Giften; Applizierung von Kontaktgiften, wie Fetten, Harzen, Seifen, die durch die Stigmen eindringen und diese verstopfen. Nur unter Leitung von Weißen anwendbar sind die biologischen Maßnahmen, die darauf beruhen, daß man Feinde der Heuschrecken aus der Tier- und Pflanzenwelt, Wirbeltiere, Insekten, Pilze züchtet oder begünstigt, oder daß man die Kulturen durch Anpflanzen von heuschreckenwidrigen Pflanzen oder durch Lockpflanzen vor Ueberfällen schützt. Ueber die mit verschiedenen Mitteln in Usambara gemachten Erfahrungen gibt Vosseler ausführliche Berichte, wobei er auch neue einfache und wirksame Verfahren angibt. Theoretisch und in jedem einzelnen Falle ist die Bekämpfung der Wanderheuschrecke bei verständiger Anwendung solcher Maßnahmen keineswegs übermäßig schwierig. In praxi ist aber eine wirklich nachhaltige Bekämpfung und Ausrottung nur möglich bei einem einheitlichen planmäßigen Vorgehen in der ganzen Kolonie, und einem solchen Vorgehen stehen noch manche Hindernisse entgegen, so die Unvollständigkeit der Verkehrsmittel, besonders aber die Indolenz der Eingeborenen, die einer schnellen und fortgesetzten Benachrichtigung über Invasionen und ihren Weg entgegensteht, und die damit auch die Benachrichtigung bedrohter Gebiete und die Zusendung von Hilfskräften erschwert. Zu einer umfassenden Bekämpfung der Heuschrecken in unserer ostafrikanischen Kolonie ist das staatlicherseits auch hiermit betraute Biologisch-Landwirtschaftliche Institut in Amani nur imstande, wenn es fortgesetzt durch zweckdienliche Nachrichten aller beteiligten Kreise auf dem Laufenden gehalten wird. Vosseler hat daher als Zoologe des Instituts ein eingehendes Schema aller jener Punkte aufgestellt, auf die es bei diesen Benachrichtigungen ankommt.

Th. Kuhlgatz (Berlin).

Schaffnit, Das Auftreten der Ephestia figulilella im Reisfuttermehl. (Landwirtschaftliche Versuchsstationen. 1907. p. 457.)

Verf. teilt über Ephestia figulilella mit, daß dieser Kleinschmetterling, der sich bisher in Deutschland häufiger an Südfrüchten fand, massenhaft im Reisfuttermehl auftritt, und zwar in einem Falle wahrscheinlich aus Südamerika (La Plata) eingeschleppt war. Nach einigen Angaben über Morphologie und Biologie der Tiere wird der durch sie angerichtete Schaden und Maßnahmen zu ihrer Vernichtung besprochen. Unter anderem wird Desinfektion der Säcke mit Schwefelkohlenstoff empfohlen.

Ehrenberg (Breslau).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nielsen, J. C., Ueber die Entwickelung von Agromyza carbonaria Zett., der Urheber der „Markflecken". (Zool. Anz. Bd. XXIX. p. 221—222.)

Seit langem ist es bekannt, daß die sogenannten Markflecken in den Jahresringen verschiedener Holzgewächse durch Fliegenlarven hervorgerufen werden, deren im Cambium verlaufende Fraßgänge durch neu entstehende Cambialzellen umwachsen werden, jedoch gelang es erst Verf., die von Ratzeburg vorläufig als Tipula suspecta bezeichnete Larve durch gelungene Züchtung mit Agromyza carbonaria Zett. in Verbindung zu bringen. Außer einer genauen morphologischen Beschreibung gibt N. einige Angaben über die Lebensgeschichte, wonach die erwachsene Larve ein linienförmiges (?) Loch durch die Rinde bohrt, dann aber noch einmal im Innern des Ganges ohne Häutung in eine andere, gedrungenere Form übergeht; nach einer gewissen Ruhezeit bohrt sie sich in jener Oeffnung heraus, um zu Boden fallend sich einige Zentimeter unter der Oberfläche zu verpuppen. Nach Ueberwinterung im Puppenstadium erscheint die Fliege Anfang Mai. — Die hierher gehörige Arbeit von Tubeuf (Forstlich-naturw. Zeitschr. Bd. VI. 1897. p. 314—319. 3 Fig.) scheint N. unbekannt geblieben zu sein.

Jacobi (Tharandt).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Rössler, Oskar, Der Nachweis von Crenothrix polyspora im Trinkwasser. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1628.)

Bei jeder eisenhaltigen Quelle, bei der die Untersuchung auf Bakterien keinen genügenden Anhaltspunkt für die vermutete Verunreinigung (unappetitliches Aussehen, bräunliche Niederschläge) gibt, ist ein Versuch anzustellen, mit Hilfe von ausgeglühten Ziegelstücken die Spaltalge Crenothrix polyspora herauszuzüchten. Durch die Lebenstätigkeit dieser Pflanze wird das in Wasser vorhandene Eisenoxydul in Eisenoxydhydrat übergeführt, worauf sich das Wasser bräunt. Nach einigen Wochen ist das Ziegelstück mit einem stattlichen Rasen von Crenothrix bewachsen. Laugt man das in den Scheiden eingelagerte Eisenhydroxyd, die Eisenhülle der Alge, mit starker Salzsäure mehrmals aus, so kann man die Crenothrix-Fäden unter dem Mikroskope sehr gut besichtigen. Die auf den Ziegelstücken erhaltenen Kulturen sind, wenn man sie mit Wasser bedeckt hält und diesem von Zeit zu Zeit einen Kristallsplitter Eisensulfat zugibt, außerordentlich widerstandsfähig und haltbar.

Georg Schmidt (Berlin).

Bissérié, Procédé simple et rapide de préparation des milieux gélosés et gélatinés. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XXI. 1907. No. 3.)

Verf. empfiehlt das folgende Verfahren: Die Gelatine wird in einem Becherglase auf dem Wasserbade gelöst. Eine konische Erlenmeyer-Kochflasche wird mit dünner Leinwand überbunden, darauf wird eine Schicht Fließpapier gelegt und darüber noch dünne Leinwand gebunden. Die Kochflasche stellt man umgekehrt in das Becherglas mit der Gelatinelösung ein und das ganze wird im Autoklav bei offenem Hahn bis 100° geheizt. Wenn die ganze Luftmenge ausgetrieben ist, wird bis 120° mit

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geschlossenem Hahn geheizt. Nach dem Verlaufe einiger Minuten wird der Autoklav abgekühlt und wenn das Manometer 0 zeigt, wird der Hahn sehr langsam geöffnet, so daß die Luft nach und nach langsam eindringen kann. Die Gelatinelösung wird dadurch durch das Filter in die Kochflasche gepreßt. Das ganze Verfahren soll nur $^1/_2$ Stunde dauern. Um diese Mischung von Kondenswasser mit der Gelatinelösung zu vermeiden, kann ein Deckel über das Becherglas angebracht werden.

Klöcker (Kopenhagen).

Perotti, R., Per l'esame bacteriologico agrario del terreno. (Atti della Reale Accademia dei Lincei. Vol. XVI. 1. 1907.)

Verf. zieht aus seinen Beobachtungen folgende Schlüsse:

Die Zahl der Keime, welche man bei der bakteriologischen Untersuchung des Erdbodens aus künstlichen Kulturen mit Torfextraktnährboden (mit 1:1000 Gehalt von Mineralsubstanzen und Zusatz von 1 Proz. Glycosium) erhält, ist gewöhnlich eine viel größere, als diejenige, welche von den Fleischgelatinenährböden und vom Nähragar geliefert wird. In ihrem Verhalten nähern sich dem genannten Nährboden am meisten die Albumose von Heyden und der Torfextrakt mit Zusatz von „Heydens Nährstoff"; in diesen Nährböden ist jedoch die Entwickelung der Kolonieen nicht so gleichmäßig. In dem zuerst genannten Nährboden sind unter den gefundenen Mikroorganismen die Hyphomyceten in hohem Maße vertreten.

Die Nützlichkeit der Anwendung der „mageren" Kulturböden bei der bakteriologischen Prüfung des Erdbodens wurde schon von Faelli und Grassi erhoben, welche bei ihren Forschungen mit gutem Erfolge Heydens Albumose anwendeten. Diese Nützlichkeit erscheint auch durch die Versuche, welche Verf. anstellte, sehr deutlich bewiesen.

Erstens kann man durch Anwendung eines mageren Kulturbodens, welcher die Entwickelung von Keimen erlaubt, welche an einen an Eiweiß- und überhaupt stickstoffhaltigen Substanzen sehr armen Nährboden gewöhnt sind, die nitrophilen Mikroorganismen in überwiegender Zahl nachweisen. Zweitens erlaubt uns die Entwickelung von Hyphomyceten, welche in dem Torfnährboden in ausgezeichneter Weise stattfindet, in zweckmäßiger Weise einen Faktor der Fertilität des Erdbodens zu prüfen, auf welchen bis jetzt zu wenig Gewicht gelegt worden ist. Es ist nämlich anzunehmen, daß die Hyphomyceten, welche im Erdboden sehr zahlreich sind, durch ihre saure Sekretion in einem ziemlichen Maße zu den löslich machenden Prozessen beitragen, welche im Erdboden stattfinden. Obwohl die Intensität der Wirkung, welche sie entfalten können, eine viel geringere als diejenige der Bakterien ist, muß man doch einsehen, daß diese geringere Wirkungsfähigkeit der Hyphomyceten durch eine viel bedeutendere Entwickelung derselben im Erdboden kompensiert wird.

Am Ende zeigt eine Tatsache, die beobachtet wurde, daß man den Torf immer mit Vertrauen anwenden kann. Wie Verf. selbst beweist, befördert der Torf in hohem Grade den Prozeß der Ammonisation des Calciumcyanamid, bei welchem neben den physikalischen und chemischen Wirkungen auch die bakterielle Tätigkeit eine bedeutende Rolle spielt. Außerdem haben Müntz und Lainé eine neue nicht weniger wichtige Tatsache erheben können, welche beweist, daß der Torf im stande ist, eine intensive Produktion der Nitrate zu befördern, da er ein für die Funktion der nitrifizierenden Mikroorganismen sehr günstiges Mittel darstellt.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

All das scheint zu beweisen, daß die Mikroorganismen, welche eine Funktion in der Agrikultur haben, im Torf sehr günstige Entwickelungsbedingungen finden. Bertarelli (Turin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Loew, Oskar, Ueber die Veränderung des Zellkernes durch kalkfällende Mittel. (Bulletin of the Coll. of Agric. Tokyo. Vol. VII. No. 1.)

Frühere Beobachtungen über eigenartige Giftwirkungen von 0,5- bis 2-proz. Lösungen des neutralen oxalsauren Kalis auf den Zellkern von Spirogyren veranlaßten den Verf., der Frage experimentell näher zu treten. Verglichen wurden in Bezug auf Giftwirkung auf Spirogyra nitida 0,5-proz. Lösungen von Dikaliumoxalat, Natriumfluorid, Dikaliumkarbonat, Magnesiumsulfat, Kaliumnitrat, Dikaliumphosphat und Monokaliumphosphat. Nach 30 Minuten waren in den Lösungen von Dikaliumoxalat und Natriumfluorid sowie in geringerem Grade von Dikaliumkarbonat „die Kerne in ihrer ursprünglichen Lage zu Fäden kontrahiert, sonst noch keinerlei schädliche Wirkungen sichtbar“. In den anderen Lösungen waren Veränderungen der Fäden nicht zu beobachten. Nach 20 Stunden waren im Oxalat und Fluorid sämtliche Kerne in Fadenform erstarrt, die Chlorophyllkörper kontrahiert und oft zerrissen. Im Karbonat waren alle Zellen gleichfalls tot, der Inhalt verquollen und das Chlorophyll zerstört. Wo die Zellkerne noch sichtbar waren, erwiesen sie sich durch die alkalische Reaktion gequollen. Im Magnesiumsulfat waren in 20 Proz. der Zellen die Kerne in der Längsrichtung kontrahiert. Das Aussehen der Fäden in den übrigen Lösungen war normal.

Verwendung 5-proz. Lösungen von Kaliumnitrat, Di- und Monokaliumphosphat ergab eigenartige plasmolytische Erscheinungen. Verf. sucht die Erklärung für die starke Giftwirkung des Oxalats, Fluorids und Karbonats in der Ausfällung der Kalkverbindungen der Zellkerne, wofür die Versuche in der Tat sprechen.

Eine Polemik gegen Czapek bildet den Schluß.

Vageler (Königsberg i. Pr.).

Aso, K., Injurious action of acetates and formates on plants. (Bull. of the Coll. of Agr. Tokyo Imp. Univ. Vol. VII. I. p. 13.)

Die schädliche Wirkung freier Essigsäure und Ameisensäure auf höhere und niedere Pflanzen ist bereits lange bekannt. Daß auch Acetate und Formiate dieselbe Wirkung selbst bei starker Verdünnung ausüben, war ohne weiteres nicht anzunehmen und hat K. Aso sich der Mühe unterzogen, diese Frage durch eine Reihe interessanter Experimente zu klären. Als Versuchspflanzen dienten: Spirogyra, Schößlinge von Sorghum und anderen Kulturpflanzen und Zweige von Quercus acuta, Photinia glabra und Capsicum longum.

Von Salzen kamen zur Verwendung 0,1—1-proz. Lösungen von Calcium- und Natriumacetat und Formiat und zum Vergleich entsprechende Lösungen von Natrium- Kalium- und Calciumsulfat, -nitrat resp. -oxalat. Die Beobachtungsdauer betrug je nach der Resistenz der Pflanzen 5 Minuten bis 6 Wochen, im Durchschnitt 10—20 Tage.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seine Folgerungen aus dem tabellarisch geordneten Material faßt K. Aso am Schlusse seiner Abhandlung selbst folgendermaßen zusammen:

1) Acetate und Formiate von Alkalimetallen und Calcium wirken in Lösungen von 0,5 Proz. und darüber schädlich auf Phanerogamen, während sie unter denselben Bedingungen auf höhere Algen, wie Spirogyra, ohne Einfluß sind. Es steht dies in bemerkenswertem Gegensatz zu der Wirkung des neutralen Kaliumoxalates, welches bei gleicher Konzentration nicht nur für Phanerogamen ein starkes Gift ist, sondern denselben giftigen Charakter auch gegen höhere Algen (Spirogyra) äußert.

2) Die giftige Wirkung der Acetate und Formiate wird sehr wahrscheinlich durch Dissoziierung dieser Salze in Säure und Base im Zellenleib everursacht, wobei die Base an Eiweißsäuren gebunden wird, während die dadurch frei gewordene Säure das Protoplasma angreift.

Vageler (Königsberg i. Pr.).

Köck, G., Praktische Erfahrungen mit Formaldehyd als Getreidebrandbekämpfungsmittel. (Oesterreichisches Landwirtschaftliches Wochenblatt. 1907. p. 99.)

Die Versuche wurden nicht im Laboratorium, sondern in der landwirtschaftlichen Praxis zumeist mit sehr großen Quantitäten Saatgut durchgeführt und zwar durchwegs mit Weizen und nur in einem Falle mit Weizen und einer geringen Quantität Roggen. Die Mengen des gebeizten Weizens schwankten von 65 bis 823 Meterzentner; vom Roggen wurden nur 24 Meterzentner gebeizt. Die Beizkonzentration schwankte von 0,1 bis 0,8 Proz. und die Beizdauer von $^1/_2$ bis 15 Minuten. Während die Prozente Brand im gebeizten Getreide von 0,0 bis 5 Proz. schwankten, wurde in nicht gebeiztem Getreide ein Auftreten von 2 bis 25 Proz. beobachtet. Es sind daher die Erfolge mit der Formaldehydbeize günstig ausgefallen; eine Keimkraftsbeeinträchtigung war wohl in einigen Fällen konstatierbar, doch nirgends so stark, daß dadurch ein direkter Schaden verursacht worden wäre. Ueberall war aber nach den Berichten eine günstige Wirkung in Bezug auf das Auftreten der Brandkrankheiten zu verzeichnen. Wenn auch nicht in allen Fällen vollständig vermieden, wurde doch überall der Prozentsatz an Brandähren durch die Formaldehydbeize bedeutend herabgedrückt. Einigemale neben der Formaldehydbeize angewendete Kupfervitriolbeize ergab bei weitem keine so günstigen Resultate wie erstere Beize. Die vorliegenden Resultate bilden einen praktischen Beweis für die Richtigkeit der durch Laboratoriumsversuche schon lange festgestellten Tatsachen. Stift (Wien).

Kelhofer, Ueber die Ausführung und die Ergebnisse von Haftfestigkeitsversuchen kupferhaltiger Bekämpfungsmittel gegen die Peronospora. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1907. Heft 1.)

Verf. beschreibt zunächst die von ihm angewendete Methodik, die sich besonders die Feststellung der Haftfestigkeit der Kupferlösungen zum Gegenstande machte.

Bei künstlicher Beregnung des auf Blattflächen angetrockneten Bespritzungsmittels ergab sich:

1) größere Haftfestigkeit der Burgunderbrühe (mit 2,4 Tl. krist. Soda auf 2 Tl. Kupfersulfat) gegenüber der Bordeauxbrühe (mit 2 Tl.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gebr. Kalk auf 2 Tl. Kupfersulfat). Bei Anwendung von nur 1 kg Kalk bei der letzteren stieg die Haftfestigkeit erheblich.

2) Im Gegensatz zu Chuard und Porchet wurde eine geringere Haftfestigkeit gegenüber Burgunder- und Bordeauxbrühe sowohl für Verdet neutre wie für Verdet basique festgestellt, besonders für das letztgenannte. Doch dürfen im Weinberge die Verhältnisse für Verdet günstiger liegen.

3) Die Wirkung von Zuckerzusätzen erwies sich bei den verschiedenen Spritzmitteln verschieden, dürfte auch wesentlich von Nebenumständen, z. B. Dauer des Regens, abhängen.

4) Azurin weist entschieden eine geringere Haftfestigkeit auf als Burgunder- und Bordeauxbrühe.

Da sich bei nun sich anschließenden Versuchen mit natürlicher Beregnung nicht unwesentlich andere Ergebnisse zeigten, es sank z. B. die Haftfestigkeit der Burgunderbrühe unter die der Bordeauxbrühe, ja sogar unter die des Verdet neutre, so prüfte Verf. die Beteiligung des Ammoniumnitrats wie der Kohlensäure an diesem Auflösungsprozeß, Bestandteile, die ja beide im natürlichen Regen enthalten sind. Durch die neuen Versuchsreihen ergab sich:

1) daß, wie zu erwarten war, beiden Atmosphärilien eine lösende Wirkung auf die Kupferverbindungen zukommt, und zwar der Kohlensäure, wie es scheint, eine größere als dem salpetersauren Ammoniak;

2) daß der Burgunderbrühenniederschlag leichter gelöst wird als der Bordeauxbrühenniederschlag, indem die an der Platte haften gebliebene Kupfermenge bei der Burgunderlösung geringer war.

3) Die lösende Wirkung des Ammonnitrates wie der Kohlensäure nahm mit zunehmender Alkalität der Brühe ab.

Für die Lösung der Niederschläge der Bespritzungsmittel kommt also neben der mechanischen Wirkung des Regens noch die chemische Wirkung der Kohlensäure wie des Ammoniumnitrates der natürlichen Niederschläge in Betracht. Außerdem ist bei Verwendung von Quellwasser zur Erzeugung künstlichen Regens bei Versuchen noch zu beachten, daß der im Quellwasser gelöste doppeltkohlensaure Kalk die lösende Wirkung des Ammoniumnitrates und der Kohlensäure beeinträchtigt.

Endlich zieht Verf. den Schluß, daß die Bordeauxbrühe mit einem mäßigen Ueberschuß von Kalk, also etwa 1 Kilo auf 2 Kilo Kupfersulfat, unter allen Umständen empfohlen werden kann. (Wie Verf. auch selbst feststellt, dürfte auf dem hier behandelten Gebiete noch weitgehende Arbeit nötig sein, seine Mitteilungen sind daher auch wohl nur als vorläufig orientierend anzusehen.) Ehrenberg (Breslau).

Henneberg, Einiges über das Hederich-Spritzverfahren, speziell ein Beitrag über den Einfluß der Witterung auf die Wirkung der Metallsalze. (Journ. für Landwirtschaft. 1907. Heft 1/2.)

Nachdem Verf. auf die besonders in Bayern durchgeführte Methode, die Hederichvertilgung durch Bespritzung auf genossenschaftlichem Wege zu ermöglichen, hingewiesen, wendet er sich der Bedeutung der Witterung für den Erfolg des Spritzverfahrens zu.

Er unterscheidet bei der Gesamtwirkung des Bespritzens mit Metallsalzlösungen zwei gesondert zu bewertende Faktoren, nämlich:

1) die Metallsalzwirkung, die lokal begrenzt an den Stellen der

Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Pflanze eintritt, welche von der Lösung befeuchtet worden sind. Diese dringt durch die von keiner Wachsschicht geschützte Cuticula und verursacht Plasmolyse und dann Absterben der betroffenen Zellverbände. Es ist nicht an der Tatsache zu rütteln, daß alle Pflanzenteile, auf welche die Salzlösung eingewirkt hat, auch zu Grunde gehen. Der trotzdem sehr häufig äußerst wechselnde Erfolg des Spritzens findet seine Erklärung wesentlich durch den zweiten Faktor:

2) die Witterungswirkung. Tritt sie in ihrer vollen Ausdehnung günstig in Erscheinung, so vertrocknen einmal die von der Metallsalzlösung besprengten Blattteile alsbald, ebenso infolge des nun gehinderten Wasserzuflusses auch der größte Teil der in sie eingebetteten gesundeu Gewebe. Auf diese Weise gehen die Blattorgane schnell zu Grunde, die Zirkulation in der Pflanze gerät ins Stocken, und es tritt eine so empfindliche Vegetationsstörung ein, das der Hederich derselben manchmal noch am Bespritzungstage, in den meisten Fällen am Tage nach der Bespritzung erliegt. Eine Ausnahme hiervon macht nur der in der Vegetation schon zu voller Knospung vorgeschrittene Hederich. Dieser hält die Beraubung seiner Blattorgane meist aus, wahrscheinlich, weil der starke, durch die Blätter vor der Einwirkung der Metallsalze geschützte Stengel genügend Reservestoffe enthält, um unter günstigen Verhältnissen weiter zu treiben.

Die Größe des Erfolges hängt also einzig und allein von der Größe der erzielten Vegetationsstockung ab, letztere muß so schnell und energisch eintreten, daß die Pflanze nicht Zeit hat, Ersatzorgane zu bilden. Demgemäß muß die größte Bedeutung für die Frage des Gelingens einer Hederichbespritzung der relativen Feuchtigkeit der Luft beigemessen werden, die ja in der Hauptsache durch Sonne und Wind beeinflußt wird, und zwar besonders von der ersteren. Außerdem ist es wahrscheinlich, daß die Frühjahrswitterung auch noch den Erfolg des Verfahrens in anderer Weise bedingt, insofern nämlich wahrscheinlich bei feuchter Witterung gewachsene, in dem schwammigeren Gewebe mehr Wasser führende Pflanzen die schädlichen Einflüsse der Bespritzung besser überstehen. Das Auskristallisieren der Lösung auf den Blättern wird dagegen die Wirkung nur vorübergehend ungünstig beeinflussen.

Als Ratschläge bringt Verf. daher am Schluß seiner Arbeit: 1) Man spare nicht mit der Metallsalzlösung; 2) man bespritze den Hederich in möglichst jugendlichem Zustande, je zarter die Pflanze, desto eher erliegt sie; 3) wer sich auf das Deuten von Wetterkarten versteht, spritze nicht gerade im Augenblick des Herannahens eines barometrischen Minimums, da solches meist für mehrere Tage das Wetter verdirbt. Zu heikel darf man in dieser Beziehung aber jedenfalls nicht sein, da man immer mit dem Fortschreiten der Vegetation des Hederichs rechnen muß.

Ehrenberg (Breslau).

Graef, Ueber Karbolineumversuche im Jahre 1906. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 3.)

Aus dem Verhalten der mit reinem oder verdünntem Karbolineum angestrichenen Stämme konnte mit Sicherheit festgestellt werden:

1) daß alle mit unverdünntem Karbolineum angestrichenen Wunden mit einer einzigen Ausnahme gesundeten, gleichgültig, ob dieselben von Krebs oder von einer sonstigen Verwundung herrührten. Ueberall wurde eine gesunde, teilweise sogar eine energische Ueberwallung der Wunden vorteilhaft bemerkt.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Bei den ganz angestrichenen Bäumen mit glatten Stämmen wirkten verschiedene Karbolineumarten ungünstig, hinderten die Transpiration und verursachten so meterlange Risse in der Rinde bis tief ins Holz. Nur eine Karbolineumsorte zeigte diesen Nachteil nicht (Obstbaumkarbolineum von Schacht-Braunschweig). Die bedeutende Zunahme des Chlorophyllgehaltes der bestrichenen Rinde konnte durch einen mikroskopischen Vergleich unzweifelhaft festgestellt werden.

3) An Bäumen mit rauhborkigen Stämmen war durch Bestreichen der ganzen Bäume in keinem Falle Schaden entstanden.

4) Alle pflanzlichen und tierischen Parasiten waren verschwunden. Besonders wird dies vom Weidenbohrer, Splintkäfer, Blutlaus, Gummifluß hervorgehoben, wobei übrigens vielleicht Sortenunterschiede des Karbolineums eine gewisse Rolle spielen und sich die mildere Wirkung des vorerwähnten Karbolineum Schacht in weniger günstigem Lichte zeigt.

Aus den Bespritzungsversuchen mit Karbolineum zieht Verf. folgende Schlüsse:

1) Das Bespritzen hat im Frühjahre, mit Beginn der Vegetation, längstens aber bis zum vollständigen Aufplatzen der Knospen zu erfolgen.

2) Die Konzentration der Lösung soll dann jedenfalls unter 10 Proz. nicht herabgehen.

3) Alle späteren Bespritzungen haben keinen besonderen Erfolg mehr, weil nur zu verdünnte Lösungen genommen werden dürfen.

4) Die Arbeit kann nicht sorgfältig genug durchgeführt werden.

5) Verf. glaubt, in dem richtig angewendeten Karbolineum ein unschätzbares Bekämpfungsmittel von tierischen und pflanzlichen Parasiten sehen zu sollen, wenn dasselbe im Frühjahre angewandt wird. Andernfalls greife man lieber zu Kupferkalkbrühe.

Die Versuche werden fortgesetzt und auch auf den Weinbau ausgedehnt. Ehrenberg (Breslau).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Aderhold, Ueber die Beobachtung der Pflanzenkrankheiten. Vortrag. (Handelsbl. f. d. dtschn Gartenbau. Jg. XXII. 1907. N. 23. p. 253—254.)

Froggatt, Walter W., Economic entomology and current literature 1906. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 4. p. 354—359.)

Hess, L., Zur Frage des latenten Mikrobismus. 1. Teil. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 1. p. 1—10.)

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Hrsg. v. Alfr. Koch. Jg. XV. 1904. Leipzig (Hirzel) 1907. VIII, 636 p. 8⁰. 22 M.

Jahresbericht über das Gebiet der Pflanzenkrankheiten. Hrsg. v. M. Hollrung. Bd. VIII. Das Jahr 1905. Berlin (Parey) 1907. VIII, 340 p. 8⁰. 15 M.

Schander, R., Mitteilung der Abteilung für Pflanzenkrankheiten des Kaiser Wilhelm-Instituts für Landwirtschaft in Bromberg für die Monate Juni und Juli an die Sammelstellen und Sammler für Pflanzenkrankheiten. (Landw. Centralbl. Posen. Jg. XXXV. 1907. N. 25. p. 274—275.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bettges, W., Zum Nachweis von Sarcina. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXXIII. 1907. N. 19. p. 253—255.)

Biffi, Ugo, Semina e cultura degli anaerobi obbligati nel vuoto. (Soc. med.-chir. di Bologna. 14 mars 1907.)

Edinger, L., Ein neuer Apparat zum Zeichnen und Projizieren. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 1. p. 26—34. 5 Fig.)

Fulton, John S. and **Stokes, Wm. Royal,** A description of some convenient laboratory devices. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 1. p. 89—96. 9 Fig.)

Guéguen, F., Préparation instantanée de solutions colorantes limpides. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 17. p. 879.)

Hassak, Karl, Neue Mikrotome. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XIII. 1907. Heft 1. p. 1—6. 4 Fig.)

Heinemann, P. G., A substitute of potato as a culture medium. (Trans. of the Chicago pathol. Soc. Vol. VII. 1907. N. 1. p. 13—15.)

Kubo, Ino, Zur Behandlung von Celloidinserienschnitten. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXX. 1907. Heft 1. p. 175—176. 1 Fig.)

Marpmann, G., Aceton in der mikroskopischen Technik. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1906. p. 157—161.)

—, Ueber die Wasserentziehung durch Calciumkarbid. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1907. p. 261—262.)

Neuhauss, Richard, Lehrbuch der Mikrophotographie. 3. umgearb. Aufl. Leipzig 1907. XVI, 282 p. 8°. 3 Taf. u. 63 Fig. 9 M.

Reichert, C., Neue Mikroskopstative mit Handhabe. D.R.G.M. No. 246019. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1907. Heft 10. p. 235—240. 3 Fig.)

—, Neue Spiegelkondensoren zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1907. Heft 10. p. 240—243. 2 Fig.)

Siedentopf, H., Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 1. p. 13—20.)

Studnička, F. K., Wie kann man im Sehfelde des Mikroskopes zwei verschiedene Präparate gleichzeitig zu sehen bekommen und gleichzeitig projizieren? (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 1. p. 34—38.)

Systematik, Morphologie.

Bubák, Fr. und **Kabát, J. E.,** Mykologische Beiträge 4. (Forts.) (Hedwigia. Bd. XLVI. 1907. Heft 5. p. 289—298.)

Cufino, Luigi, Note micologiche Italiane. 1. (Malpighia. Anno XX. 1906. Fasc. 8/9. p. 345—352.)

Dietrich, E., Ueber den Hausschwamm. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 516—520 [hierzu Erwiderung von Rich. Falck p. 520].)

Eckstein, K., Wie findet man Parasiten in den Raupen des Kiefernspinners (Lusiocampa pini)? 3. Aufl. Neudamm (J. Neumann) 1907. 14 p. 8°.

Guilliermond, A., La cytologie des bactéries. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année V. 1907. N. 7. p. 273—283; N. 8. p. 321—331. 9 Fig.)

Hagedorn, Max, Fossile Borkenkäfer. (Dtsche entomol. Ztschr. Jg. 1907. Heft 3. p. 259—261.)

Hart, J. H., Phytophthora omnivora, Black Pod. (Bull. Misc. Inform. Trinidad 1907. p. 180.)

v. Höhnel, Franz, Fragmente zur Mykologie (III. Mitt. N. 92—155). (Sitzungsber. d. Wiener Akad. Abt. I. Bd. CXVI. 1907. p. 83—162. 1 Taf.)

Hori, L., Un Ustilago esculenta, P. Henn. (Ann. Mycol. Vol. V. 1907. N. 2. p. 150—154. 2 Taf.)

Jungano, Michel, Bacille neigeux. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 13. p. 677—679.)

Köck, G., Ueber die Bedeutung der saprophytischen Pilze für den Pflanzenschutz. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. X. 1907. Heft 5. p. 532—536. 1 Fig.)

Maillefer, A., Chamaesiphon sphagnicola n. sp. (Bull. Herb. Boiss. 2, VII. 1907. p. 44—45.)

Mjöberg, Eric, Om Tomicus cryptographus Ratzb. (Entomol. Tidskr. Årg. XXVII. 1906. Heft 3/4. p. 137—142. 5 Fig.)

Mokrzecki, S., Naturgeschichte einer Halmeule (Tapinostola musculosa Hb.). (Zeitschr. f. Insektenbiol. Bd. III. 1907. Heft 3. p. 87—92. 5 Fig.)

Molisch, Hans, Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen. Eine mikrobiologische Studie. Jena (Fischer) 1907. VII, 95 p. 8°. 4 Taf. 5 M.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Newstead, Robert, Dutton, J. E. and **Todd, J. L.,** Insects and other arthropoda collected in the Congo Free State. (Ann. of trop. med. and parasitol. T. I. 1907. Fasc. 1. p. 3—112. 6 Taf.)

Oudemans, A. C., Notes on Acari. XVIth Series (Parasitidae, Bdellidae, Acaridae). (Tijdschr. voor Entomol. Deel 49. 1906. Afl. 4. p. 237—270. 4 Taf.)

Peronospora effusa (Grev.) Rabenh. e P. spinaciae Laubert. (Malpighia. Anno XX. 1906. Fasc. 8/9. p. 406—408.)

Saccardo, P. A., Notae mycologicae. (Ann. Mycol. Vol. V. 1907. N. 2. p. 177—179.)

Search for parasites. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XXV. 1907. P. 3. p. 190—192.)

Smith, A., Recent advance in the study of fungi. (Science Progr. 20 cent., London I. 1906/7. p. 530—537.)

Wellman, F. Creigthon, 1. Notes on some noxious insect larvae from Angola. 2. On some stinging plants from Angola. 3. Intestinal Myiasis in Angola. (Journ. of trop. med. Vol. X. 1907. N. 11. p. 185—187.)

Wilson, G. W., Melanospora parasitica. (Torreya. Bd. VI. 1907. p. 57—60.)

Biologie.

Aggazzotti, Alberto, Osservazioni ultramicroscopiche sui processi fermentativi. (Ztschr. f. allg. Physiol. Bd. VII. 1907. Heft 1. p. 62—85. 1 Taf.)

Arnold, Miles B., On the effect of the exposure to tobacco smoke on the growth of pathogenic microorganisms. (Lancet 1907. Vol. I. N. 18. p. 1220—1221. 1 Fig.)

Bardou, P. M. J., Etude biochimique de quelques Bactériacées thermophiles et de leur rôle dans la désintégration des matières organiques des eaux d'égout. Lille 1906. 122 p. 8°.

Cavara, F. e **Mollica, N.,** Ricerche intorno al ciclo evolutivo di una interessante forma di Pleospora herbarum (Pers.) Rab. (Ann. Mycol. Vol. V. 1907. N. 2. p. 119—149. 2 Taf. u. 4 Fig.)

Chifflot, Sur la présence de l'Ustilago maidis (D. C.) Corda sur les racines adventives du Zea mays L., et de sa variété quadricolor, et sur les biomorphoses qu'elles présentent. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLIV. 1907. N. 14. p. 764—766.)

Cholodkovsky, N., Zur Biologie von Scardia tegulatella Zell. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. III. p. 68—83. 6 Fig.)

Ehrenberg, Neueres über die Nitrifikation und ihre Bedeutung. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 22. p. 171—172; N. 23. p. 180—181.)

Garbowski, Ludvik, Gestaltsänderung und Plasmoptyse. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. IX. 1907. Heft 1. p. 53—83.)

Horrocks, W. H., Experiments made to determine the conditions under which „Specific" bacteria derived from sewage may be present in the air of ventilating pipes, drains, inspection chambers and sewers. (Proc. R. Soc. London. Ser. B. Vol. LXXIX. Biol. Sc. N. B. 531. p. 255—266. 7 Fig.)

Junitzky, N., Ueber Zymase von Aspergillus niger. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Jg. XXV. 1907. Heft 4. p. 210—212.)

Kostytschew, S., Zur Frage der Wasserstoffbildung bei der Atmung der Pilze. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Jg. XXV. 1907. Heft 4. p. 178—188.)

—, Ueber anaërobe Atmung ohne Alkoholbildung. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Jg. XXV. 1907. Heft 4. p. 188—191.)

Lindner, Einige interessante Fälle von Oxalsäurebildung bei Pilzen und Hefen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 18. p. 242—243.)

de Ludre et **Marie, A.,** Action suspensive des pates de céruse et de blanc de zinc sur les cultures microbiennes aérobies. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 14. p. 735—736.)

Marpmann, G., Tebecidin. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1906. p. 183—189.)

—, Ueber die Bakterien der Samen von Sinapis-Arten und die Zersetzungen des Tafelsenfs. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1906. p. 27—34.)

McAlpine, D., Experiments with nitrogen-fixing bacteria in connection with lucerne. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 4. p. 349—353. 2 Fig.)

Miehe, Hugo, Ueber Selbsterhitzung. (Med. Klinik. Jg. III. 1907. N. 18. p. 520—521.)

Ori, Alessandro, Della influenza che sul potere battericida spiega il contenuto in acqua di alcune sostanze liquide, provate a temperatura dell' ambiente, ed a quella del vapore acquos fluente e saturo a pressione ordinaria. (Riv. di igiene e di sanità pubbl. Anno XVIII. 1907. N. 11. p. 325—341.)

Péju, G. et **Rajat, H.,** Variations chromogènes du Micrococcus prodigiosus dans les milieux alcalins. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 15. p. 792—793.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Péju, G. et **Rajat, H.**, Fixation des couleurs par les bactéries. (Compt. rend. soc. biol T. LXII. 1907. N. 18. p. 954—955.)

Raciborski, M., Einige Chemomorphosen des Aspergillus niger. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1906. p. 131—139.)

Rajat, H. et **Péju, G.**, Note sur l'action pathogène des levures. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 17. p. 893—895.)

Rosenthal, Georges, Retour au type anaérobie initial de l'anaérobie de reconstitution. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 19. p. 1020—1021.)

Stockhausen, Ferdinand, Oekologie, Anhäufungen nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht. Nachtrag. (Forts.) (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 22. p. 285—289; N. 24. p. 313—316; N. 25. p. 325—331.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Ekelöf, Erik, Studien über den Bakteriengehalt der Luft und des Erdbodens der antarktischen Gegenden, ausgeführt während der schwedischen Südpolar-Expedition 1901—1904. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 344—370.)

Galli-Valerio, B. et **Vourloud, P.**, Recherches sur quelques citernes du Jura au point de vue de l'hygiène. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. N. 13/15. p. 418—427. 5 Fig.)

Jackson, Daniel D., The use of lactose-bile medium in water analysis. (Journ. of infect. dis. Vol. III. 1907. p. 30—32.)

Lancelot, J., Purification des eaux par l'ozone. Thèse de Lyon 1906/07. 8°.

Leers, Otto, Ueber Trinkwasser vom Standpunkt der öffentlichen Gesundheitspflege. [Forts.] (Friedreichs Blätt. f. gerichtl. Med. Jg. LVIII. 1907. Heft 3. p. 202—211.)

Peters, Die Wasserversorgungsfrage der Stadt Magdeburg. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 400—424.)

Sawin, Luther R., Experience with lactose-bile medium for the detection of B. coli in water. (Journ. of infect. dis. Vol. III. 1907. p. 33—38.)

Sellards, Andrew Watson, Sanitary chemical examination of water bacteria. (Journ. of infect. dis. Suppl. N. 3. 1907. p. 41—49.)

Tirelli, Elio, I termofili delle acque potabili. (Riforma med. Anno XXIII. 1907. N. 10. p. 265—267.)

Weston, Robert Spurr and **Tarbett, Ralph E.**, Comparative results obtained by the use of lactose-bill and dextrose-broth media for the detection of B. coli in water. (Journ. of infect. dis. Suppl, N. 3. 1907. p. 39—40.)

Nahrungsmittel im allgemeinen.

Croner, Fr. und **Seligmann, Erich**, Ueber Ameisensäure enthaltende Konservierungsmittel; zugleich ein Beitrag zur Toxikologie der Ameisensäure. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 387—399.)

Harris, Charles E. and **Prausnitz, Carl**, The preservations of food. (Journ. of the R. Inst. of publ. health. Vol. XV. 1907. N. 5. p. 257—262.)

Jahresbericht über die Fortschritte in der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, bearb. v. H. Beckurts. Jg. XV: 1905. Göttingen (Vandenhack u. Ruprecht 1907. 220 p. 8°. (Aus: Jahresber. d. Pharmazie.) 7 M.

Fleisch.

Gautié, Albert, Sur la teneur en bactéries de quelques huitres. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 15. p. 766—768.)

Kickton, A., Ueber die Wirkung einiger sogenannter Konservierungsmittel auf Hackfleisch. (Ztschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel. Bd. XIII. 1907. Heft 9. p. 534—542.)

Marpmann, Die Zusammensetzung der gebräuchlichsten und im Handel vorkommenden Fleischkonservierungsmittel. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XII. 1907. Heft 11. p. 273—275.)

Milch, Molkerei.

v. Adelloff, A., Etwas über die Lebensdauer der Milchsäurebakterien. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. III. 1907. Heft 6. p. 233—235.)

Auché, A., Lait et allaitement. (Arch. de méd. navale. T. LXXXVII. 1907. N. 5. p. 350—371.)

Die Prüfung der Milch auf Unreinlichkeiten. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXV. 1907. Heft 23. p. 585—587. 1 Fig.)

Fuhrmann, Franz, Ueber Yoghurt. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XIII. 1907. Heft 10. p. 598—604.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Graziani, Alberto, Contributo allo studio dell' enzima ossidante nell latte. (Fine.) (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXIX. 1907. N. 5. p. 193—207.)

Grosso, Giacomo, Bakteriologische Untersuchungen von Trockenmilch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVII. 1907. Heft 9. p. 312—315.)

Kaiser, Franz J., Die hygienische Kontrolle der Milchgewinnung. (Ill. landw. Ztg. Jg. XXVII. 1907. N. 46. p. 415—417.)

Koning, C. J., Biologische und biochemische Studien über Milch. 5. Teil: Die Enzyme. (Forts.) (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. III. 1907. Heft 6. p. 235—261. 2 Taf.)

Laxa, Oskar, Ueber den Einfluß der Laktose und der Milchsäure auf die Zersetzung von Kasein durch Mikroorganismen. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. III. 1907. Heft 5. p. 200—207.)

Plehn, Reine Milch. (Milch-Ztg. Jg. XXXVI. 1907. N. 23. p. 268—269.)

Reiss, F., Sind die großen oder kleinen Milchhandlungen vom hygienischen Standpunkt vorzuziehen? (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XXI. 1907. N. 23. p. 625—627.)

Revis, Cecil and **Payne, George Arthur,** The acid coagulation of milk. (Journ. of hyg. Vol. VII. 1907. N. 2. p. 216—231.)

Slack, Francis H., The comparative value of bacterial and temperative regulations for a citys milk supply. (Journ. of infect. dis. Suppl. N. 3. 1907. p. 76—81.)

Trillat, A. et **Sauton,** Sur la présence d'aldéhydes dans les fromages et sur leur rôle dans la formation de l'amertume. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLIV. 1907. N. 6. p. 333—335.)

— —, Sur le lait amer. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLIV. 1907. N. 17. p. 926—929.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, E., La désacidification graduelle des vins. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 39. p. 154.)

Langlade, M., L'acescence des vins. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 41. p. 162.)

—, Le mutage des mouts à l'acide sulfureux. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 43. p. 169—170.)

—, L'acescence des vins. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 44. p. 174.)

Pacottet, P., Sur la maladie de l'amertume des vins. (Rev. de viticulture. Année XIV. 1907. N. 702. p. 595—598.)

Schindler, Josef, Beiträge zur Frage des Rahnwerdens der Weine (La casse). (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIV. 1907. N. 25. p. 243—244.)

Thomas, G., La casse des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 35. p. 138.)

—, La Pasteurisation des vins. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 36. p. 142.)

—, L'acide sulfureux dans les vins. (Le Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 46. p. 182.)

Zacharewicz, Ed., Noctuelle on ver gris. (Rev. de viticulture. Année XIV. 1907. T. XXVII. N. 702. p. 613.)

Bier, Brauerei.

Černý, Das Malzmehl als Mittel zur Erhöhung des Vergärungsgrades. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXV. 1907. N. 19. p. 203—205.)

Jahresbericht des Vereines Oesterreichische Versuchsstation und Akademie für Brau- und Malzindustrie in Wien 1906. Wien 1907. 20 p. 4°.

Magerstein, Vinz., Bazillol. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 21. p. 162—163.)

Miškovský, O., Studie o sarcinách, jež zaviňují onemocnění piva. [Studie über d. Sarcine, welche d. Verderben d. Bieres verschulden.] = Rozpravy České Akademie v Praze. Tř. 2, Roč. 15, Č. 36.

Robitschek, K., Brasilianisches Bier und seine Bedeutung. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXV. 1907. N. 23. p. 251—253.)

Rüffer, Ernst, Ueber Infektion durch Schuhwerk und Gebrauchsgeräte im Brauereibetrieb. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 25. p. 337, 338.)

Schönfeld, F., Weitere Untersuchungen über die Schleimkrankheit des Berliner Weißbieres. (Jahrb. d. Versuchs- u. Lehranst. f. Brauerei in Berlin. Bd. IX. 1906. p. 415.)

Ueber das Pasteurisieren der Biere. (Nach einem Vortrage von P. Petit.) (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXV. 1907. N. 19. p. 205—207.)

Will, H., Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. 3. Mitt. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 25. p. 347—352.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Clark, H. W., Eight years work with trickling sewage filters at the Lawrence Experiment Station. (Engineering News, April 11, 1907.) Sep. New York, Engineering News Publ. Co. 25 p. 2 Fig. 25 cents.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kuhs, E., Ueber desinfizierenden Wandanstrich mit besonderer Berücksichtigung des Vitralin. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 329—343.)
Piorkowski, Ueber Jodofan. (Berl. klin. Wchnschr. Jg. XLIV. 1907. N. 20. p. 633—635. 3 Fig.)
Phelps, Earle B. and **Winslow, C. E. A.**, On the use of methylene blue in testing sewage effluents. (Journ. of infect. dis. Suppl. N. 3. 1907. p. 1—13.)
Rapp, J., Beitrag zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. (Ann. d. städt. Krankenhäuser zu München. Bd. XII: 1900—02. München 1907. p. 498—501.)
Report of the soil chemist and bacteriologist. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. N. 22/23. p. 673—677.)
Seligmann, E., Ueber die Prüfung gereinigter Abwässer auf ihre Zersetzungsfähigkeit. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLVI. 1907. Heft 3. p. 371—386.)
Teichert, Kurt, Ueber moderne Desinfektionsmittel und die Desinfektion in Molkereien. (Molkerei-Ztg. Jg. XXI. 1907. N. 20. p. 535—537.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Aderhold, R. and **Ruhland, W.**, Ueber den Bakterienbrand der Kirschbäume. Flugbl. Biol. Anst. Landw. Berlin 1907. 4 p. 5 Fig. 8°.
Appel und **Gassner, G.**, Der Brand des Hafers und seine Bekämpfung. Flugbl. Biol. Anst. Landw. Berlin 1907. 4 p. 6 Fig. 8°.
American gooseberry mildew. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 2. p. 104—106. 1 Taf. u. 2 Fig.)
Bee disease in the Isle of Wight. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 2. p. 115.)
Behrens, J., Die Peronospora in Baden im Jahre 1906. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 5. p. 134—137.)
Bernard, Ch., Notes de pathologie végétale. 1. Sur quelques maladies de Thea assamica, de Kickxia elastica et de Hevea brasiliensis. (Bull. Dép. Agr. Ind. Néerl. VI, 1907. 55 p.)
Blunno, M., The manufacture of vine vinegar on a small scale. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 4. p. 360—361.)
Börner, C., Der Obstwickler, Carpocapsa pomonella L. 2. Aufl. Flugbl. Biol. Anst. Landw. Berlin 1907. 4 p. 6 Fig.)
Burtt-Davy, Joseph, Dodder in lucerne. (Transvaal agric. Journ. Vol. V. 1907. N. 19. p. 677—679. 1 Taf.)
Butler, O., Observations on some vine diseases in Sonoma County, Calif. (California Agr. Exp. Stat. Bull. 1906. N. 168. p. 1—29. M. Taf. u. Fig.)
Calvino, M., Il pidocchio o fleotripide dell' olivo. (Ital. agron. T. XLIII. 1906. p. 108—109.)
Capus, J., Le mildiou et le dosage des bouillies. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 705. p. 677—680.)
Clutterbuck, P., Stock diseases. Reports on abattoir. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XV. 1907. P. 4. p. 235—241.)
Compere, Geo, Kerosene remedy and the fruit fly (Ceratitis capitata). (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XXV. 1907. P. 4. p. 244—245. 1 Taf.)
Cool storage and fruit fly. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XXV. 1907. P. 4. p. 252—253.)
Cordes, P., Die Bekämpfung des Huflattichs. (Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. Jg. LXIV. 1907. N. 22. p. 311.)
Das Auftreten der Peronospora an Gescheinen und Trauben. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 5. p. 58—59.)
Die ungleichen Borkenkäfer. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXV. 1907. Heft 24. p. 616—617. 2 Fig.)
Die Reblausdebatte im Reichstage am 19. April d. J. (Mitt. d. Dtschn Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 6. p. 183—196.)
Die Verbreitung der Reblaus in Oesterreich. Die Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 19. p. 217—220.)
Diseases of plants cultivated in Connecticut. Notes on Fungus-diseases for 1904. Downy mildew or blight of musk Melons and Cucumbers, Peronoplasmopara cubensis. Downy mildew or blight of potato, Phytophthora infestans. (Rep. of the Stat. Botanist of the Connecticut Agric. Exper. Stat. for 1903 and 1904. New Haven Rep. Exp. St. 92 u. 74 p. 41 Taf.) 6 M.
Distant, W. L., Descriptions of two cotton pests from West Africa. (Entomologist. Bd. XXXIX. 1906. p. 269—270.)

Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Eriksson, Die wahre Bedeutung der Berberitze für die Verbreitung des Getreiderostes. (Ill. landw. Ztg. Jg. XXVII. 1907. N. 41. p. 371—373.)

Evans, J. B. Pole, Notes on plant diseases. (Transvaal agric. Journ. Vol. V. 1907. N. 19. p. 680—682.)

G. B., Schädlinge in der Rebschule. (Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 24. p. 277—279.)

Gale, Albert, Bees and their management. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 4. p. 329—330.)

—, Influence of bees on crops. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII 1907. P. 5. p. 432—437. 3 Fig.)

Green, W. J. and **Waid, C. W.,** The early and late blight of potatoes and how to combat them. (Ohio Agr. Exp. Stat. Circ. 58 1906. p. 1—4.)

Grevillius, A. Y. u. **Niessen, J.,** Zoocecidia et Cecidozoa imprimis provinciae Rhenanae. Atlas und Begleitwort zu Zoocecidia et Cecidozoa imprimis provinciae Rhenanae. Sammlung von Tiergallen und Gallentieren, insbes. aus d. Rheinlande. Lfg. 1. N. 1—25. Rhein. Bauern-Ver. 1906. 8°.

Hollrung, M., Einige Bemerkungen über die während des Jahres 1906 in Deutschland an den Zuckerrüben beobachteten Erkrankungen. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zuckerind. Lief. 616. 1907. p. 519—524.)

Houard, C., Les galles de l'Afrique occidentale française. III—IV. (Marcellia. T. V. 1906. p. 3.)

Jefferson, J. S., Truit fly. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XXV. 1907. P. 3. p. 161—165.)

Kieffer, J. J. e **Cecconi, G.,** Un nuovo dittero galligeno su foglie di Mangifera indica. (Marcellia. T. V. 1906. p. 135—136. M. Fig.)

Korff, G., Fadenwürmer im Weinstock und im Birnbaum. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. V. 1907. Heft 6. p. 67—69. 1 Fig.)

Krasser, Fridolin, Neuere Untersuchungen über die physiologischen Krankheiten des Weinstockes und deren Bekämpfung. (Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 23. p. 264—269; N. 24. p. 276—277; N. 25. p. 288—292.)

Larch disease on Pinus Laricio and Pinus silvestris. (Trans. Scott. Arb. Sc. Vol. XX. 1907. p. 117.)

Lindner, Von welchen Folgen kann die Gersten- und Hopfenpflanze befallen werden? (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 20. p. 266—267.)

Maiden, J. H., One of the so-called Quinines of N. S. Wales (Petalostigma quadriloculare). (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 5. p. 472.)

McDougall, R. Stewart, Wood wasps. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 2. p. 98—104. 4 Fig.)

Metcalf, The pathology of the rice plant. (Science. N. S. Vol. XXV. 1907. p. 264.)

Mingrino, E., La carie dell' ulivo. (Ital. agric. T. XLIII. 1906. p. 177—178.)

Mites on apple trees (Oribata lapidaria). (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 2. p. 108.)

Müller, C. A., Das Auftreten der Peronospora viticola unter besonderer Berücksichtigung der Witterungsverhältnisse an Mosel und Saar in den Jahren 1905 und 1906, sowie einige Ratschläge zur Bekämpfung resp. Abwehr. (Mitt. d. Dtschen Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 6. p. 177—183.)

Müller-Thurgau, Zur Bekämpfung des Schwarzbrenners, des roten Brenners und der Milbenkrankheit der Reben. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIV. 1907. N. 22. p. 213—214.)

Newman, L. J., Parasites. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XXV. 1907. P. 4. p. 273.)

—, Entomological notes. Work for the month. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XXV. 1907. P. 4. p. 284.)

—, Distribution of parasites. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol. XV. 1907. P. 2. p. 101—102.)

-ng, Die Kropfkrankheit des Kohls. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXV. 1907. Heft 20. p. 515—516. 1 Fig.)

Pacottet, P., Entwurf eines Beobachtungsplanes der Pilzkrankheiten des Rebstockes. (Beil. zu N. 5 d. Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Mainz 1907. 8 p.)

Paddock, W., A new Alfalfa-disease. (Colorado Agr. Exp. Stat. Press Bull. 1906.)

Peglion, V., Alterazioni crittogamiche delle castagne. (Ital. agric. T. XLIII. 1906. p. 36—38; 101—103.)

Petri, L., Nuovi studi sulla „Brusca" dell' olivo. (Bull. min. agr. Ind. e Comm. V. 1906. p. 445—452.)

Quanjer, H. M., De belangrijkste ziekten van kool in Noordholland. Diss. Amsterdam 1906. 84 p. (Nat. Verh. Holl. Mij. Wet. 1906.) 7 Taf.

Ravn, F. K., Plantesygdomme paa nogle af querne Kattegat. (Tidsskr. Landbr. Planteavl. XIII. 1906. p. 117—124.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Inhalt.

Zusammenfassende Uebersichten.

Stift, A., Mitteilungen über im Jahre 1906 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten auf dem Gebiete der Zuckerrüben- und Kartoffelkrankheiten, p. 289.

Originalreferate aus bakteriol. u. gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Landw. Institut Göttingen.

Pringsheim, Hans, Ueber die Stickstoffernährung der Hefe, p. 310.

Report of the Soil Chemist and Bacteriologist, p. 318.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation, Berlin.

Bettges, D. W., Zum Nachweis von Sarcinen, p. 324.
Schönfeld, F., Weitere Untersuchungen über die Schleimkrankheit des Berliner Weißbieres. (Vortrag), p. 322.
—, Ist der Hefeauftrieb als wesentliches Charakterisierungsmerkmal bei der Obergärung anzusehen und liegen Erfahrungen darüber vor, daß die obergärigen Hefen durch die Gärführung ihr Auftriebsvermögen verlieren können? (Vortrag), p. 323.
—, Die Sarcinafrage auf Grund neuerer Versuche. (Vortrag), p. 323.

Kornauth, K., Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen und Pflanzenschutzstation in Wien für das Jahr 1906, p. 324.

Referate.

Aderhold, Versuche über den Einfluß häufigen Regens auf die Neigung zur Erkrankung von Kulturpflanzen, p. 348.
Aderhold und **Ruhland**, Der Bakterienbrand der Kirschbäume, p. 355.
Arthur, J. C. and **Kern, F. D.**, North American species of Peridermium, p. 347.
Bain, S. M. and **Essary, S. H.**, A new anthracnose of alfalfa and red clover, p. 354.
von Bazarewski, Beiträge zur Kenntnis der Nitrifikation und Denitrifikation im Boden, p. 338.
Bokorny, Th., Die Kontaktwirkungen in der biologischen Chemie. Enzym und Plasma, p. 328.
—, Die „Bios"-Frage und die mineralische Ernährung der Hefe, p. 331.
Bolle, J., Ueber die von der k. k. landwirtschaftlich - chemischen Versuchsstation in Görz im Jahre 1906 beobachteten Pflanzenkrankheiten und tierischen Schädiger, p. 349.
Bréaudat, L., Sur un nouveau microbe producteur d'acétone, p. 333.
Brizi, U., Ulteriori ricerche intorno al brusone del riso, p. 354.
Buhlert, Untersuchungen über das Auswintern des Getreides, p. 353.
Busse, W., Bericht über die pflanzenpathologische Expedition nach Kamerun und Togo 1904/1905, p. 350.
Cavara, Fr. e **Mollicia, N.**, Ricerche intorno al ciclo evolutivo di una interessante forma di Pleospora herbarum (Pers.) Rabh., p. 346.
Constantineanu, J. C., Ueber die Entwickelungsbedingungen der Myxomyceten, p. 344.
Delacroix, G., État de nos connaissances sur la fermentation du tabac, p. 344.
Ducamp, L., Une nouvelle plante nourrice pour l'Orobanche hederae Duby, p. 357.
Ehrenberg, Die Bewegung des Ammoniakstickstoffs in der Natur, p. 338.
Ehrlich, Die chemischen Vorgänge bei der Hefegärung, p. 334.
v. Faber, Ueber den Pustelschorf der Rüben, p. 360.
Falck, Ueber den Hausschwamm, p. 361.
Fischer, Ed., Ueber den Einfluß des alpinen Standortes auf den Entwickelungsgang der Uredineen, p. 347.
Gedroiz, Der Phosphorsäurebedarf des Rotklees im Zusammenhang mit dem Verlauf der Aufnahme des genannten Nährstoffs und mit der Kleemüdigkeit des Bodens, p. 343.
Giard, A., La Teigne de la Betterave (Lita ocellatella Boyd), p. 361.
Guerbet, M., Notes sur la fermentation du Yoghurt, p. 336.
Hahn, Gotthold, Ueber die in Frage kommenden Pilzarten bei der Pilzvergiftung in Gera am 19. August 1905, p. 327.
Hollrung, Ueber die Steigerung der Rübenerträge durch Anwendung von Reizmitteln, p. 343.
Hornberger, Nochmals Streu und Stickstoff, p. 340.
Jacobi, A., Grundriß der Zoologie für Forstleute, p. 363.
Kempski, E., Ueber endozoische Samenverbreitung und speziell die Verbreitung von Unkräutern durch Tiere auf dem Wege des Darmkanals, p. 362.
Kirchner, Ueber die Empfänglichkeit verschiedener Weizensorten für die Steinbrandkrankheit, p. 354.
Kirkaldy, G. W., Leaf-Hoppers-Hemiptera.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

— Leaf-Hoppers and their natural enemies, Pt. IX, p. 364.
Koch und **Lüken,** Ueber die Veränderung eines leichten Sandbodens durch Sterilisation, p. 342.
Komers und **Freund,** Die Wertbestimmung des Rübensamens, p. 360.
Le Dantec, A., Note sur une nouvelle catégorie de microbes: les microbes chlorurophiles, p. 326.
—, Le microbe du rouge de morue, p. 326.
Linhart, Pseudoperonospora Cubensis auf Melonen und Gurken, p. 356.
Massee, G., Text-book of fungi, including morphology, physiology, pathology, classification etc., p. 344.
Natan, L. und **Fuchs, W.,** Ueber die Beziehungen des Sauerstoffs und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und der Gärtätigkeit der Hefe, p. 334.
Nielsen, J. C., Ueber die Entwickelung von Agromyza carbonaria Zett., der Urheber der „Markflecken", p. 370.
Pantanelli, E., Vinificazione al bisolfito e fermento puro del Lambrusco, p. 336.
Peglion, V., Di un alga nociva a le risaje e dei mezzi per combatterla, p. 354.
—, Intorno ad un caso di emiparasitismo del Rhacodium cellare, p. 356.
—, Die Kleeseide als Schmarotzerpflanze der Zuckerrübe und des Hanfes, p. 357.
Perotti, E., Sopra la forma italiana del Nitrosomonas europaea, p. 337.
Petri, L., Ricerche sopra la batteriosi del fico, p. 355.
—, Novi studii su la Brusca dell' Olivo, p. 356.
Purvis, J. E. and **Warwick, G. R.,** The influence of spectral colours on the sporulation of Saccharomyces, p. 333.
Rossi, G. e **Guarnieri, P.,** Contributo a lo studio della formazione dell' humus, p. 337.
Rubner, Max, Ueber spontane Wärmebildung in der Milch und die Milchsäuregärung, p. 334.
Rübsaamen, Ew. J. H., Ueber Bildungsabweichungen bei Vitis vinifera L. und auf dieser Pflanze lebende Cecidomyiden, p. 363.
Sawamura, On the micro-organismus of Natto, p. 335.
Scalia, G., Acarosi della vite, p. 364.
Schaffnit, Das Auftreten der Ephestia figulilella im Reisfuttermehl, p. 369.
Schulze, Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwickelung der Pflanzen, p. 341.
Sforza, Claudio, Sulle cause d'inquinamento da microorganismi del brodo concentrato, che si prepara a Casaralta (Bologna) per il R. esercito e sul modo di evitarle, p. 327.
Smidt, Henry, Ueber die sogenannte Reduktase der Milch, p. 334.
Soukup, J., Schoßrüben und Tradition, p. 359.
Stutzer, Beobachtungen über die Wirkung von Nitrit und von Impferde auf Sojabohnen, p. 341.
—, Untersuchungen über die Wirkung sehr hoher Gaben von schwefelsaurem Ammoniak bei Gegenwart von organischen Substanzen und von kohlensaurem Kalk im Boden, p. 341.
Tirelli, E., I termofili delle acque potabili, p. 328.
Ulpiani, C., Evoluzione chimica e biochimica della calciocianamide nel terreno agrario, p. 337.
Vogler, P., Zoocecidien von St. Gallen und Umgebung, p. 364.
Vosseler, J., Gurkenschädlinge in Ostusambara, p. 356.
—, Die Wanderheuschrecken in Usambara im Jahre 1903/1904, zugleich ein Beitrag zu ihrer Biologie, p. 366.
Wilhelmj, A., Eine eigenartige Rübenkrankheit, p. 358.
Zederbauer, Emerich, Die Folgen der Triebkrankheit der Pseudotsuga Douglasii Carr., p. 352.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bissérié, Procédé simple et rapide de préparation des milieux gélosés et gélatinés, p. 370.
Perotti, R., Per l'esame bacteriologico agrario del terreno, p. 371.
Rössler, Oskar, Der Nachweis von Crenothrix polyspora im Trinkwasser, p. 370.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Aso, K., Injurious action of acetates and formates on plants, p. 372.
Graef, Ueber Karbolineumversuche im Jahre 1906, p. 375.
Henneberg, Einiges über das Hederich-Spritzverfahren, speziell ein Beitrag über den Einfluß der Witterung auf die Wirkung der Metallsalze, p. 374.
Kelhofer, Ueber die Ausführung und die Ergebnisse von Haftfestigkeitsversuchen kupferhaltiger Bekämpfungsmittel gegen die Peronospora, p. 373.
Köch, G., Praktische Erfahrungen mit Formaldehyd als Getreidebrandbekämpfungsmittel, p. 373.
Loew, Oskar, Ueber die Veränderung des Zellkernes durch kalkfällende Mittel, p. 372.

Neue Litteratur, p. 376.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Abgeschlossen am 22. August 1907.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 13|15.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **J. Kürsteiner,** Assistent.

Mit 6 Figuren.

(Schluß.)

Wund drückt sich allerdings hierüber vorsichtig folgendermaßen aus: „Von wesentlichem Einfluß wird nach Meinung von Herrn Prof. Meyer dieses Verfahren nicht gewesen sein. In einigen Fällen konnte es vielleicht dazu geführt haben, daß die Minima der Sauerstoffkonzentration etwas nach oben verschoben worden sind, da die Sporen, eventuell die Oidien, die bessere Sauerstoffkonzentration von Zeit zu Zeit genießen konnten. Vorzüglich für die Sporen wird das aber, wie gesagt, kaum von Belang gewesen sein. Eine wesentliche Schädigung der in Flüssigkeit liegenden Sporen durch den schnellen Druckwechsel möchte Herr Prof. Meyer auch nicht annehmen."

Nach unserer Ansicht dürfte jedoch nicht allein der Umstand, daß die Kulturen alle 2 Tage einer schnell erfolgenden Druckänderung ausgesetzt worden sind, indem sie aus dem Kulturraum etwa eine Stunde entfernt und in Luft untersucht wurden, sondern auch die Tatsache der sehr erschwerten Kontrolle der im Nährboden ursprünglich vorhandenen Sauerstoffquantitäten von nicht zu unterschätzendem Einflusse gewesen sein.

Gehen wir nun über zu einer Würdigung unserer Versuchsergebnisse in Hinsicht auf die herrschenden Anschauungen über das Wesen der Anaërobiose, so drängen sich in den Vordergrund die Konsequenzen, welche mit dem Nachweis, daß das Vorhandensein ungebundenen Sauerstoffs nicht zu den unerläßlichen Lebensbedingungen der Anaëroben gehört, notwendig verbunden sind. Dieser Nachweis wurde von uns geleistet zunächst für die bekanntesten Vertreter der Gruppe der obligat anaëroben Bakterien. Die von uns getroffene Versuchsanordnung läßt den Schluß zu, daß die Entwickelung der genannten Organismen bei vollständigem Sauerstoffabschluß in beliebiger Zahl von Generationen sich abspielen kann, ohne daß irgend ein Zeichen der Abschwächung zu bemerken wäre. Bei den bisher zur Beantwortung dieser Frage herangezogenen Versuchen war die Möglichkeit, daß der mit dem Impfmaterial eingeführte oder dem Nährboden anhaftende Sauerstoff eine Rolle bei der Entwickelung der Kultur spielen konnte, niemals mit genügender Sicherheit ausgeschlossen gewesen.

Nach unseren Versuchen erscheint jeder Zweifel darüber, daß es Wesen gibt, die sich bei dauerndem Ausschluß freien Sauerstoffs normal entwickeln, endgültig ausgeschlossen.

Wir haben unsere Versuche über successive Kultur im 16-teiligen,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

luftfreien Kultursystem mit obligat anaëroben Bakterien begonnen, weil wir nur für diese ein positives Ergebnis erwarten zu dürfen glaubten. Eine angenehme Ueberraschung bereitete uns daher der Befund, daß typisch fakultativ anaërobe Arten den dauernden vollständigen Luftausschluß in genau gleicher Weise wie die obligat Anaëroben ertragen und nicht die geringste Störung in ihren Funktionen erkennen lassen; mit anderen Worten: Bei fehlendem Sauerstoff beruht die Entwickelung obligat anaërober nnd fakultativ anaërober Bakterien offenbar auf identischen physiologischen Grundlagen, und man könnte die beiden Typen nicht auseinanderhalten, wenn man sich nicht nachträglich bei Luftzutritt überzeugen würde, daß die Entwickelung des ersteren plötzlich zum Stillstand kommt, während der letztere nun erst recht üppiges Gedeihen zeigt.

Der von uns geleistete Nachweis, daß die Anaërobiose der fakultativ Anaëroben nicht eine Anaërobiose untergeordneten Grades ist, sondern sich in jeder Beziehung der Anaërobiose der obligat Anaëroben an die Seite stellen kann, steht in scharfem Gegensatz zu gewissen verbreiteten Anschauungen, als deren Hauptvertreter M. W. Beijerinck zu nennen ist. Der Grundgedanke dieser Anschauungen, welche zur Einteilung der Organismen in aërophile und mikroaërophile geführt hat, beruht auf der Annahme, daß alle lebenden Wesen freien Sauerstoff bedürfen, daß aber dieses Bedürfnis in sehr verschiedenem Grade abgestuft ist. So wären die obligat Anaëroben nach Beijerinck nur scheinbar anaërob, in Wirklichkeit in extremem Grade mikroaërophil. Daß die fakultativ Anaëroben von Zeit zu Zeit freien Sauerstoff bedürfen, d. h. auf die Dauer nicht anaërob existieren können, scheint Beijerinck (7) als selbstverständlich anzunehmen. Er sagt (l. c. p. 410): „Nous sommes forcés d'admettre chez la levûre de bière et les autres organismes facultativement anaérobies, l'existence d'une réserve d'oxygène libre dans la cellule même, ce qui permet temporairement l'anaérobiose par un processus inexpliquable à présent. L'analogie appuyée des faits ci-dessus rapportés, conduit à la même conclusion pour les anaérobies obligatoires.“

Was der genannte Forscher für die fakultativ Anaëroben als selbstverständlich, bezw. als bewiesen hinstellt, glaubt er, wie aus dem Zitat hervorgeht, für die obligat Anaëroben auf Grund eines Analogieschlusses annehmen zu dürfen. Nun erweist sich aber jene für die fakultativ Anaëroben gemachte Voraussetzung als durchaus unzutreffend, und mit ihrer Haltlosigkeit verliert auch die auf ihr fußende Annahme der Notwendigkeit freien Sauerstoffes für die obligat Anaëroben jede Stütze. Umgekehrt hätte das von uns auf experimentellem Wege festgestellte bemerkenswerte Verhalten der fakultativ Anaëroben bei fehlendem Sauerstoffzutritt mit viel größerer Berechtigung einen Schluß auf das Verhalten der obligat Anaëroben zugelassen, doch kamen wir nicht in die Lage, diesbezügliche Erwägungen anzustellen, weil wir aus angegebenen Gründen zuerst die obligaten und dann erst die fakultativ Anaëroben auf ihr Verhalten bei Sauerstoffabwesenheit prüften. Die Analogie besteht in der Tat, doch in einem der Beijerinckschen Theorie von der Mikroaërophilie direkt widersprechenden Sinne.

Die Quelle der irrtümlichen Auffassung Beijerincks ist unschwer aufzufinden. Sie ist in R. Burris (4) These 7 durch folgenden Satz gekennzeichnet: Man hat mit Unrecht immer und immer wieder von den Verhältnissen bei der Hefe auf die Verhältnisse bei den Bakterien ge-

Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

schlossen und bis in die neueste Zeit die tiefgreifenden Unterschiede verkannt, welche die beiden Organismenklassen trennen." In These 9 derselben Mitteilung werden dann diese Unterschiede näher präzisiert: „Wo fakultativ und obligat anaërobe Bakterien in zahlreichen Generationen sich bei völliger Abwesenheit freien Sauerstoffs entwickeln, müssen notwendigerweise die im Dienst der Spaltungsatmung stehenden Enzyme auf Grund eines anaëroben Stoffwechsels der betreffenden Organismen entstehen, und hierin liegt ein prinzipieller Unterschied gegenüber der Hefe. Zymase resp. Alkoholase entsteht nur auf Grund eines Stoffwechsels, der mit Beteiligung freien Sauerstoffs sich abspielt; die Spaltungsenzyme der echten fakultativ und obligat anaëroben Bakterien werden weder unter direkter noch unter indirekter Mitwirkung freien Sauerstoffs produziert.

Die von uns festgestellte Tatsache der völligen Unabhängigkeit der fakultativ anaëroben Bakterien vom Zutritt freien Sauerstoffes läßt diese Organismen in einem gegen bisher etwas veränderten Lichte erscheinen. Sonst wurden dieselben als ein Uebergangsglied zwischen Aëroben und obligat Anaëroben aufgefaßt, als eine Gruppe, deren Vertreter am besten bei Luftzutritt gedeihen, unter Umständen aber auch ihr Leben bei Luftausschluß eine Zeitlang fristen können. Unsere Untersuchungen haben dazu beigetragen, den genannten Organismen die Stellung eines übergeordneten Typus zuzuweisen im Sinne der von R. Burri (4) in These 10 vertretenen Annahme, „welche als ursprünglichen Typus den wirklich (nicht temporär) fakultativ anaëroben aufstellt, aus dem sich durch einseitige Betätigung der Sauerstoffatmung der obligat aërobe, durch einseitige Betätigung der Spaltungsatmung der obligat anaërobe entwickelt hat.

Daß der obligat aërobe Typus bei Sauerstoffentzug nur mit Hilfe von bei Sauerstoffzutritt gebildeten Enzymen den Betriebsstoffwechsel unterhalten kann, soweit deren Vorrat und Wirksamkeit reicht, ist dann selbstverständlich, wie andererseits der obligat anaërobe Typus von vornherein dazu geschaffen erscheint, den Sauerstoff, den er zur Produktion der für ihn so wichtigen Spaltungsenzyme nicht nötig hat, für immer entbehren zu können."

Schlußsätze.

a) betreffend die Untersuchungstechnik:

1) Unter den zahlreichen bisher angewendeten Mitteln zur Herstellung sauerstofffreier Nährböden und Kulturräume gebührt dem Kali-Pyrogallol-Gemisch der Vorzug auf Grund seiner einfachen Handhabung, Billigkeit und zuverlässigen Wirkung.

2) Das Kali-Pyrogallolgemisch ist nicht bloß als schätzenswertes Hilfsmittel bei gleichzeitiger Anwendung oder als Bestandteil anderer, speziell physikalischer Anaërobenverfahren zu betrachten, sondern es ist, allein angewendet, genügend und hinreichend, um bei jeder beliebigen Züchtungsart den für die Entwickelung der sauerstoffempfindlichsten Mikroorganismen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unschädlichen — aber nicht notwendigen — Minimalgehalt von Sauerstoff im Nährboden herbeizuführen.

3) Das Kali-Pyrogallolgemisch ist sogar im stande, Nährböden und Kulturräume absolut sauerstofffrei zu machen, wie sich mit Hilfe der Leuchtbakterien zeigen läßt, die ein Sauerstoffreagens von außerordentlicher Schärfe darstellen. Bedeutend schneller wird dieser Zustand der absoluten Anaërobiose allerdings mit Heranziehung lebender, obligat aërober Mikroorganismen erreicht.

4) Die passendste Form der Ausnutzung des Prinzips der Sauerstoffabsorption ist gegeben in der Anwendung des von R. Burri verbesserten Anaërobenverschlusses von Wright. Dieser eignet sich für eine universelle Verwendung beim Arbeiten mit obligaten Anaërobien und seine Vorzüge haben auch die Veranlassung zu dem von uns ausgearbeiteten und beschriebenen Plattenverfahren gegeben, welches bezüglich Einfachheit, Zweckmäßigkeit und Billigkeit wohl von keinem der bisher bekannt gewordenen erreicht werden dürfte.

b) betreffend die Theorie der Anaërobiose:

5) Nicht nur die obligat anaëroben, sondern auch die fakultativ anaëroben Bakterien sind im stande, in einer beliebigen Zahl von Generationen den vollständigen Ausschluß freien Sauerstoffs zu ertragen, ohne in der Entwickelung und Ausübung der spezifischen Funktionen irgendwie geschädigt zu werden. Diese Tatsache ist in Versuchen begründet, bei welchen mit den zu prüfenden Bakterienarten in einem besonders für den Zweck hergestellten, sechzehngliedrigen Kulturgefäß successive Ueberimpfungen im absolut sauerstofffreien Raume vorgenommen wurden. Als Kontrollmittel für das Fehlen des Sauerstoffs diente die Leuchtbakterienmethode.

6) In dem übereinstimmenden Verhalten der fakultativ und obligat Anaëroben bei Luftausschluß ist ein Ausdruck für die Tatsache zu erblicken, daß die fakultativ Anaëroben ebenso vollwertige Vertreter der anaëroben Lebensweise sind wie die obligat Anaëroben, vor welchen sie überdies die Eigenschaft voraus haben, auch bei Luftzutritt normal gedeihen zu können. Damit ist das Verhältnis der beiden Organismengruppen zueinander scharf umschrieben und werden Definitionen verschwinden, wie sie nur auf Grund der bisher herrschenden unklaren Anschauungen entstehen konnten.

7) Mit dem von uns geleisteten Nachweis, daß nicht nur die obligat Anaëroben, sondern auch die typischen fakultativ Anaëroben den freien Sauerstoff für immer entbehren können, ist die Theorie der Mikroaërophilie unvereinbar und muß daher aufgegeben werden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur[1]).

1) Arens, Eine Methode zur Plattenkultur der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 15.)
2) Ankersmit, P., Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. [Diss.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIX. 1905. p. 366.)
3) Burri, R., Zur Isolierung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 533.)
4) —, Intramolekulare Atmung, Anaërobiose und Mikroaërophilie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 804.)
5) Beijerinck, M. W., zit. nach Omelianski (98).
6) —, Ueber Atmungsfiguren beweglicher Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 827.)
7) —, Les organismes anaérobies ont-ils besoin d'oxygène libre? (Arch. néerland. Série II. T. II. 1899. p. 397.)
8) —, Phénomènes de réduction produits par les microbes. (Arch. néerland. Série II. T. IX. 1904. p. 131.)
9) —, Photobacteria as a reactive in the investigation of the chlorophyll-function (Kon. akad. van wetensch. te Amsterdam. 1901. Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 685.)
10) Buchner, H., Beiträge zur Kenntnis des Neapeler Cholerabacillus etc. (Arch. f. Hyg. Bd. III. 1885. p. 361.)
11) —, Eine neue Methode zur Kultur anaërober Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. IV. 1888. p. 149.)
12) Bienstock, Anaérobies et symbiose. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. XVII. 1903. p. 850.
13) —, Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1901. p. 390.)
14) Botkin, S., Eine einfache Methode zur Isolierung anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IX. 1890. p. 383.)
15) Babes, V. u. Puscariu, E., Versuche über Tetanus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 73.)
16) Braatz, E., Einiges über die Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVII. 1895. p. 737.)
17) Bischoff, zit. nach Willimsky (159).
18) Bordet, J., Une méthode de culture des microbes anaérobies. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. XVIII. 1904. p. 334.)
19) Bulloch, W., A simple apparatus for obtaining plate cultures or surface growths of obligat anaërobes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. p. 140.)
20) Blücher, H., Eine Methode zur Plattenkultur anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890. p. 499.)
21) Beck, M., Zur Züchtung anaërober Kulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXII. 1897. p. 343.)
22) Bombicci, Nuova fiala per culture anaërobiche in piastra. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXI. 1902. p. 154.)
23) Biffi, H., Nuovo metodo per coltivare estemporaneamente gli anaërobi obligati. (Ref. in Kochs Jahresbericht 1903. Jahrg. XIV. p. 18.)
24) Chudiakow, N., Zur Lehre von der Anaërobiose. (Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 389.)
25) Dreuw, Vereinfachtes anaërobes Plattenverfahren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. p. 748.)
26) Drossbach, G. P., Methode der bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Ref. in Centrabl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 775.)
27) v. Esmarch, E., Ueber eine Modifikation des Kochschen Plattenverfahrens etc. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886. p. 301.)
28) van Ermengem, E., Ueber einen neuen anaëroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVI. 1897. p. 1.)
29) Epstein, St., Ein vereinfachtes Verfahren zur Züchtung anaërober Bakterien in Doppelschalen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 443.)
30) Ewell, E., A form of apparatus and method of manipulation for the preparation of roll cultures of anaërobic organisms. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 188.)
31) Emmerling, C., Ein einfacher und zuverlässiger Anaërobenapparat. (Hyg. Rundschau. Jahrg. XIV. 1904. p. 452.)

1) Bei der Zusammenstellung der ziemlich reichhaltigen Literatur hat mich Herr Dr. M. Düggeli in freundlicher Weise unterstützt, wofür ich ihm zu bestem Dank verpflichtet bin.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

32) v. Freudenreich, E., Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobenarten bei Hartkäsen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 327.)
33) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. Jena 1903. p. 133.
34) Fraenkel, C., Ueber die Kultur anaërober Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. III. 1888. p. 735 u. 763.)
35) —, Die Einwirkung der Kohlensäure auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889. p. 332.)
36) Frankland, P. F., Ueber den Einfluß der Kohlensäure und anderer Gase auf die Entwickelungsfähigkeit der Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889. p. 13.
37) —, Die Bakteriologie in einigen ihrer Beziehungen zur chemischen Wissenschaft. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 101.)
38) Farland, J. M., Eine einfache Methode zur Bereitung von Tetanustoxinen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIX. 1896. p. 550.)
39) Fermi, Cl. u. Bassu, E., Weitere Untersuchungen über Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. p. 138, 241, 369.)
40) — —, Untersuchungen über die Anaërobiosis. I. Abhandlung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. p. 563 u. 714.)
41) Fuchs, M., Ein anaërober Eiterungserreger. Ref. im Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 11.)
42) Ferran, J., Ueber die Verwendung des Acetylens bei der Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIV. p. 29.)
43) Ghon, A. und Sachs, M., Ueber die anaërobe Züchtung. In Weichselbaum: Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXII 1902. p. 403.)
44) Grimbert, L., Fermentation anaérobie etc. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. VII. 1893. p. 353.)
45) Gruber, M., Eine Methode der Kultur anaërobischer Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. I. 1887. p. 367.)
46) Guillemard, A., La culture des microbes anaérobies appliquée à l'analyse des eaux. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. XX. 1906. p. 155.)
47) Gabritschewsky, G., Zur Technik der bakteriologischen Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1891. p. 248.)
48) Gunning, J. W., Ueber die Lebensfähigkeit der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff. (Journ. f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XX. 1879. p. 434.)
49) Hammerl, H., Ein Beitrag zur Züchtung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 658.)
50) —, Zur Züchtung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. 1902. p. 589.)
51) v. Hibler, E., Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionserkrankungen der Tiere und des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXV. 1899. p. 513 u. 593.)
52) Hesse, W. u. R., Ueber Züchtung der Bacillen des malignen Oedems. (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XI. 1885. p. 214.)
53) Hunziker, O. F., Review of existing methods for cultivating anaërobic bacteria. (Journ. of applied mikroscopy and laboratory methods. Vol. V. No. 3. p. 1694—1856.)
54) Holliger, W., Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 419.)
55) Hüfner, G., Ueber eine neue einfache Versuchsform zur Entscheidung der Frage, ob sich niedere Organismen bei Abwesenheit von gasförmigem Sauerstoff entwickeln können. (Journ. f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XIII. 1876. p. 475.)
56) Hueppe, F., Die Methoden der Bakterienforschung. Wiesbaden 1885. p. 128.
57) Hauser, Ueber Fäulnisbakterien. Zit. nach Liborius (79).
58) Heim, L., Die Neuerungen auf dem Gebiete der bakteriologischen Untersuchungsmethoden seit dem Jahre 1887. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1891. p. 430.)
59) Hesse, W., Ein neues Verfahren zur Züchtung anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892. p. 237.)
60) Hewlett, Notes on the cultivation of the tetanus bacillus and other bacteriological methods. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894. p. 1074.)
61) Harrison, F. C., Note on a method of cultivating anaërobic bacteria. (Ref. in Kochs Jahresbericht. Jahrg. XIII. 1902. p. 24.)
62) Jacobitz, Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobiose bei Züchtung in reiner Stickstoffatmosphäre. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 232.)
63) Jensen, C. O. u. Sand, Ueber malignes Oedem beim Pferde. (Orig. in Deutsche

Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. XIII. 1887. Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. I. 1887. p. 265.)

64) Jacqué, L., A propos de l'agent de la fermentation butyrique décrit par Schattenfroh und Grassberger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. p. 28.)

65) Kitasato, S. u. Weyl, Th., Zur Kenntnis der Anaëroben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890. p. 41.)

66) Kitasato, S., Ueber den Rauschbrandbacillus und sein Kulturverfahren. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889. p. 105,)

67) —, Ueber den Tetanusbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII. 1889. p. 225.)

68) Kladakis, Th. M., Ueber die Einwirkung des Leuchtgases auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 23.)

69) Koninski, K., Ein Beitrag zur Biologie der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 569.)

70) Kedrowski, W., Ueber die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existieren können. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895. p. 358.)

71) —, Ueber zwei Buttersäure produzierende Bakterienarten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI. 1894. p. 445.)

72) Koch, R., Sitzungsbericht der Konferenz zur Erörterung der Cholerafrage. (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. X. 1884. p. 499.)

73) Kasparek, Th., Ein einfacher Luftabschluß flüssiger Nährböden beim Kultivieren anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XX. 1896. p. 536.)

74) Kitt, Th., Die Züchtung des Rauschbrandbacillus bei Luftzutritt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVII. 1895. p. 168.)

75) Kamen, L., Eine einfache Kulturschale für Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1892. p. 296.)

76) —, Zur Aetiologie der Gasphlegmone. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. p. 554.)

77) Kabrhel, G., Zur Frage der Züchtung anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXV. 1899. p. 555.)

78) Klein, A., Ein Apparat zur bequemen Herstellung von anaëroben Plattenkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIV. 1898. p. 967.)

79) Liborius, P., Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886. p. 115.)

80) Lüderitz, C., Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889. p. 141.)

81) Lubinski, W., Zur Methodik der Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894. p. 20.)

82) Lachowicz, B. u. Nencki, M., Die Anaërobiosefrage. (Arch. f. ges. Physiologie des Menschen und der Tiere [Pflüger]. Bd. XXXIII. 1884. p. 1.)

83) Löhnis, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262 u. 448.)

84) Mereshkowsky, S., Ein Apparat für Anaërobenkultur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 392.)

85) Molisch, H., Leuchtende Pflanzen. Eine physiologische Studie. Jena 1904.

86) Matzuschita, T., Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen nebst Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIII. 1902 p. 267.)

87) —, Untersuchungen über die Mikroorganismen des menschlichen Kotes. (Arch. f. Hyg. Bd. XLI. 1902. p. 211.)

88) Marpmann, Eine neue Methode zur Herstellung von anaëroben Rollglaskulturen mit Gelatine oder Agar. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. 1898. p. 1090.)

89) Meyer, Arthur, Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien und für die Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakterienspecies. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 337.)

90) Migula, Ueber einen neuen Apparat zur Plattenkultur von Anaëroben. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIX. 1896. p. 894.)

91) Nakagawa, Vorlesungen über das Studium der Infektionskrankheiten. [Japanisch.] Zit. nach Matzuschita (86).

92) Novy, F. G., Die Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 581.)

93) —, Ein neuer anaërober Bacillus des malignen Oedems. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 209.)

94) —, Die Plattenkultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894. p. 566.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

95) Nencki, M., Ueber Mischkulturen. (Centralbl f. Bakt. Bd. XI. 1892. p. 225.
96) —, Ueber die Lebensfähigkeit der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff. (Journ. f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XIX. 1879. p. 337.)
97) Nikiforoff, M., Ein Beitrag zu den Kulturmethoden der Anaëroben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890. p. 492.)
98) Omelianski, W., Die Züchtung anaërober Kleinlebewesen. (Lafars Handbuch der tech. Mykologie. 1907. Bd. I. Kap. 23. p. 576.)
99) —, Ein einfacher Apparat zur Kultur von Anaëroben im Reagenzglase. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 711.
100) —, Ueber die Gärung der Cellulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 226.)
101) Oprescu, Zur Technik der Anaërobenkultur. (Hyg. Rundschau. Jahrg. VIII. 1898. p. 107.)
102) Ogata, M., Einfache Bakterienkultur mit verschiedenen Gasen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XI. 1892. p. 621.)
103) v. Oettingen, M., Anaërobie und Symbiose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. p. 463.)
104) Pasteur, L., Expériences et vues nouvelles sur la nature des fermentations. (Compt. rend. T. LII. 1861. p. 1260.)
105) —, Nouvel exemple de fermentation déterminée par des animalcules infusoires pouvant vivre sans gaz oxygène libre etc. (Compt. rend. T. LVI. 1863. p. 416.)
106) —, Recherches sur la putréfaction. (Compt. rend. T. LVI. 1863. p. 1189.)
107) —, Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations. (Compt. rend. T. LII. 1861. p. 344.)
108) —, Zit. nach Omelianski (98).
109) —, Joubert u. Chamberland, La théorie des germes et les applications à la médecine et à la chirurgie. (Compt. rend. T. LXXXVI. 1878. p. 1037.)
110) Petri, R. J., Neue anaërobe Gelatine-Schälchenkultur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 196.)
111) Park, H. W., The use of paraffin to exclude oxygen in growing anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 445.)
112) Petri, R. J. u. Maassen, A., Ein bequemes Verfahren für die anaërobe Züchtung in Flüssigkeiten. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amte. Bd. VIII. 1893. p. 314.
113) Petruschky, J., Ein plattes Kölbchen zur Anlegung von Flächenkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 609.)
114) Penzo, R., Beitrag zum Studium der biologischen Verhältnisse des Bacillus des malignen Oedems. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1891. p. 822.)
115) Perdrix, L., Sur les fermentations etc. (Ann. de l'inst. Pasteur. Bd. V. 1891. p. 287.
116) Phipson, L., Ueber die Lebensfähigkeit von Pflanzen in einer sauerstofffreien Atmosphäre. (Orig. Chem. News. Vol. LXVIII. 1893. p. 259. Ref. in Kochs Jahresbericht. Jahrg. IV. 1893. p. 81.)
117) Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. Bd. I. 1897. p. 521.
118) —, Ueber die lockere Bindung von Sauerstoff in gewissen Bakterien. (Königl. Sächs. Gesellschaft der Wissenschaften. Leipzig 27. Juli 1896. Ref. in Kochs Jahresbericht. Jahrg. VII. 1896. p. 51.)
119) Reuschel, F., Die einfachste Methode der Anaërobenzüchtung in flüssigem Nährboden. (Münchener mediz. Wochenschr. Jahrg. LIII. 1906. p. 1208.)
120) Rivas, D., Ein Beitrag zur Anaërobenzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 831.)
121) Rist, E., Neue Methoden und neue Ergebnisse im Gebiete der bakteriologischen Untersuchung gangränöser und fötider Eiterungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 287.)
122) Růžička, St., Ein Beitrag zur Anaërobenzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 672.)
123) —, Eine neue einfache Methode zur Herstellung sauerstofffreier Luftatmosphäre, als Methode zur einfachen verläßlichen Züchtung von strengen Anaëroben. (Arch. f. Hyg. Bd. LVIII. 1906. Heft 4. p. 327.)
124) Rodella, A., Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaërobien und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozeß. 5. Mitteilung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 504 u. 589.)
125) —, Bakteriologischer Befund im Eiter eines gashaltigen Abscesses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903 p. 135.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

126) Roux, E., Anaërobe Bakterien als Ursache von Nekrose und Eiterung beim Rinde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 531.)
127) Robin, A., Eine einfache Methode anaërobe Platten herzustellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 247.)
128) Rosenbach, J., Gibt es verschiedene Arten der Fäulnis. (Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie. Bd. XVI. 1882. p. 342.)
129) Roux, E., Sur la culture des microbes anaérobies. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. I. 1887. p. 49.)
130) —, De la culture sur pommes de terre. (Ann. de l'inst. Past. Bd. II. 1888. p. 28.)
131) Roth, O., Ueber ein einfaches Verfahren der Anaërobenzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. 1893. p. 223.)
132) Rickards, R. B., A simple method of cultivating anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. p. 557.)
133) Smith, Brown u. Walker, Journ. of medic. research. Bd. XIV. 1905. p. 192. Zit. nach Omelianski (98).
134) Smith, Th., Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVIII. 1895. p. 1.)
135) Sanfelice, F., Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1893. p. 339.)
136) Scholtz, W., Ueber das Wachstum anaërober Bakterien bei ungehindertem Luftzutritt. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898. p. 132.)
137) Streng, O., Zur Züchtung der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 598.)
138) Stolz, A., Die Gasphlegmone des Menschen. (Beiträge zur klin. Chirurgie. Bd. XXXIII. 1902. p. 72.)
139) Schmidt, Ad., Eine einfache Methode zur Züchtung anaërober Kulturen in flüssigen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVII. 1895. p. 460.)
140) Schill, Kleine Beiträge zur bakteriologischen Technik. (Centralbl. f. Bakt. Bd. V. 1889. p. 337.)
141) van Senus, C., Zur Kenntnis der Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1892. p. 144.)
142) Stüler, A.. Neue Methoden zur Anaërobenkultur und Anaërokultur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. p. 298.)
143) Slupski, R., Bildet der Milzbrandbacillus unter streng anaëroben Verhältnissen Sporen? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 396.)
144) Sellards, A. W., Some researches on anaërobic cultures with phosphorous. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. p. 632.)
145) Schattenfroh, A. u. Grassberger, R., Ueber Buttersäuregärung. I. Abhandlung. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1900. p. 54.)
146) Trenkmann, Das Wachstum der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. 1898. p. 1038 u. 1087.)
147) Tarozzi, G., Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. p. 619.)
148) Tizzoni, G. e Cattani, J., Sull' attenuazione del bacillo del tetano. (Zit. nach E. v. Hibler (51).
149) — e Baquis, Bakteriologische Untersuchungen über den Tetanus. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 49.)
150) Tissier, H., Recherches sur la flore intestinale normale et pathol. du nourrisson. Paris 1900. Zit. nach Ghon u. Sachs (43).
151) Turró, R., Zur Anaërobenkultur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. 1902. p. 175.)
152) Trambusti, A., Ueber einen Apparat zur Kultur der anaëroben Mikroorganismen auf festem durchsichtigem Nährmittel. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XI. 1892. p. 623.
153) Tavel, E., Ueber den Pseudotetanusbacillus des Darmes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. 1898. p. 538.
154) Thöni, J., Bakteriologische Studien über Labmägen und Lab. (Landw. Jahrbuch der Schweiz 1906. Jahrg. XX. p. 181.)
155) Ucke, A., Ein Beitrag zur Kenntnis der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. 1898. p. 996.)
156) Veillon, Sur un microcoque strictement anaérobie trouvé dans des suppurations fétides. (Soc. de biologie 1893. Juillet. Zit. nach Rist (121).
157) Vignal, W., Sur un moyen d'isolation et de culture des microbes anaérobies. Ann. de l'inst. Pasteur. T. I. 1887. p. 358.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

158) Votteler, W., Ueber die Differentialdiagnose der pathogenen Anaëroben. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898. p. 480.)
159) Willimsky, W., Ueber das Verhalten der aëroben Keime gegenüber der absoluten Sauerstoffentziehung. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. p. 375.)
160) Wund, M., Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration etc. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 2. p. 97.)
161) Wurtz, R. et Foureur, A., Note sur un procédé facile de culture des microorganismes anaérobies. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1889. p. 710.)
162) Wrzosek, A., Ueber das Wachstum obligatorischer Anaëroben auf Kulturmitteln in aërober Weise. (Wiener klin. Wochenschr. Bd. XVIII. 1905. p. 1268.
163) Wright, J. H., A simple method for anaërobic cultivation in fluid media. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. p. 74.)
164) —, A method for the cultivation of anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 61.)
165) Zupnik, Leo, Ueber eine neue Methode anaërober Züchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIV. 1898. p. 267.)
166) Zettnow, Ein Apparat zur Kultur anaërober Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 638.)

Die vorliegende Arbeit wurde zum größten Teil während meiner Studienzeit an der Universität Zürich und dann während meiner Tätigkeit als Assistent im landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Eidg. Polytechnikums auf Veranlassung und unter Leitung des Vorstandes desselben, meines hochverehrten Lehrers und Chefs, Herrn Prof. Dr. R. Burri, ausgeführt. Es sei mir gestattet, demselben für das meiner Arbeit entgegengebrachte rege Interesse und für die reichliche Unterstützung, die er mir bei Ausführung derselben fortwährend zu teil werden ließ, den herzlichsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Der Einfluss des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien.

[Arbeit aus dem landw.-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **Guido Koestler,**

Assistent der Bernischen Molkereischule Rütti-Zollikofen (Schweiz).

Mit 18 Fig.

(Schluß.)

Versuch No. 28.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte; Säuregrad 7,2.
Impfkultur: Bacillus casei ε E 14 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Bacillus casei ε F 14 „ „ „
Bacillus mesentericus (Kartoffelkultur).
Bacterium Güntheri e 16 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Bacterium Güntheri f 16 „ „ „
Versuchsansatz: Sämtliche für Mischkultur bestimmten Proben wurden 24 Stunden vor der Impfung (mit dem Säureorganismus) mit Bacillus mesentericus geimpft und bei 37° C gehalten. 1 und 2 sind Parallelproben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchstemperatur: 40—41° C.
Versuchsdauer: 48 Stunden.
++ Kultur in flacher Schicht (12 mm).
+ „ „ hoher „ (70 „).

Zur Kultur verwendete Organismen	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ KOH 100 ccm Kultur						
	Versuch I				Versuch II		
	++		+		++		+
	1	2	1	2	1	2	1
Bac. casei ε F plus Bac. mesentericus	30,4	30,0	28,4	38,4	32,0	31,8	34,8
Bac. casei ε F	8,8	8,4	36,0	30,0	10,0	10,2	—
Bac. casei ε E plus Bac. mesentericus	32,8	34,4	18,8	18,8	22,0	21,4	16,0
Bac. casei ε E	8,0	8,4	23,2	22,0	9,6	10,0	—
Bact. Güntheri e plus Bac. mesentericus	—	—	—	—	22,0	21,2	21,0
Bact. Güntheri f	—	—	—	—	20,0	22,0	—
Bact. Güntheri e	—	—	—	—	9,6	9,2	21,5
Kontrolle Bac. mesentericus:	6,4	—	7,8	—	—	—	6,5

Aus dieser Tabelle geht die bemerkenswerte Tatsache hervor, daß die fördernde Wirkung von Bacillus mesentericus auf die Kultur von Bacillus casei ε F und E so weit geht, daß die schädigende Wirkung selbst relativ großer Sauerstoffmengen (++ Kulturen) vollständig ausgeschaltet bleibt. Für Mycoderma erhielten wir gelegentlich hier nicht angeführter Versuche in flacher Schicht mit dem Säureorganismus Bacillus casei ε F unter den gleichen Versuchsbedingungen wie in vorliegender Tabelle nur einen wenig höheren Säuregrad, als ohne Mycoderma (13,5), wohl ein Beweis, daß die säurezehrende Tätigkeit von Mycoderma fast genau der Säureproduktion des Bacillus casei ε parallel geht. Bacillus mesentericus ist nun ein schwächerer Säurezehrer und zudem ein strenger Aërobier. In dieser letzteren Eigenschaft vermag er nun eine soweit gehende Sauerstoffabsorption hervorzurufen, daß selbst in flacher Kulturschicht die Verhältnisse für eine gedeihliche Entwickelung des sauerstoffempfindlichen Bacillus casei ε gegeben sind. Tatsächlich wiesen die ++ Kulturen von Bacillus casei ε F und E in Kulturgemeinschaft mit Bacillus mesentericus sehr kräftige, lange Zellformen auf, im Gegensatz zu den entsprechenden ++ Kulturen ohne den Aërobier, welch letztere wieder die bekannten kurzen Stäbchenformen enthielten.

Resumé.

1) Die Gärtätigkeit von Bacillus casei ε erfährt eine Förderung durch Kulturgemeinschaft mit gewissen obligat aëroben Organismen, wie z. B. Mycoderma, Bacillus mesentericus.

2) Der fördernde Einfluß der obligat Aëroben besteht nicht nur in der Befreiung des Nährmediums von allfällig störendem Sauerstoff, wie er sich z. B. in niedriger Kulturschicht geltend macht, sondern noch in anderen Momenten, unter welchen die Verbesserung des Nährsubstrates, vielleicht auf Grund einer aufschließenden Wirkung stickstoffhaltiger Bestandteile in erster Linie in Betracht fallen dürfte.

Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

6. Kultur mit intermittierendem Sauerstoffzutritt.

Gestützt auf die Resultate der vorhergehenden Versuche, mußte es möglich sein, die am intensivsten der Luft ausgesetzten Proben (in flacher Schicht) durch künstliche Sauerstoffabsorption auf die gleiche Stufe der Säuerungsintensität zu bringen, wie die weniger gelüfteten Kulturen.

Neben den bis anhin gebrauchten einfach cylindrischen Probegefäßen kamen hier noch andere zur Verwendung, die nichts anderes darstellten, als ein Erlenmeyer-Kölbchen mit röhrenförmig verlängertem Halse. (Länge des röhrenförmigen Teiles 190 mm.) Dieser Röhrenansatz war notwendig zur Aufnahme der nach der Impfung eingestoßenen Verschlußwatte, so wie der mit alkalischem Pyrogallol getränkten hygroskopischen Watte (je 4 ccm Pyrogallussäurelösung und Kalilauge).

Versuch No. 29.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 7,2 resp. 6,4.
Impfkulturen: 24 Stunden alte Peptonschottenkulturen (siehe Tabelle); für ε A und ε B sind Doppelversuche angesetzt.
Versuchsansatz: (wie früher). Der Anaërobenverschluß für die langhalsigen Kolben wird in weiter oben beschriebener Weise (p. 32) ausgeführt.
Versuchstemperatur: Bacillus casei ε 42° C.
Bacterium Güntheri 30° C.
Versuchsdauer: 48 Stunden.
Impfmenge: Große Platinöse.

Kultur in:	Kubikcentimeter $\frac{n}{4}$ Kalilauge pro 100 ccm Kultur							
	Bac. casei ε A		Bac. casei ε B		Bac. casei ε E	Bac. casei ε F	Bact. Güntheri e	Bact. Güntheri f
	1	2	1	2				
flacher Schicht	10,0	10,4	10,0	11,0	9,2	9,6	16,2	21,6
hoher Schicht	20,8	22,0	19,8	20,0	26,0	39,2	22,8	24,0
hoher Schicht mit Anaërobenverschluß	21,2	20,0	19,2	18,8	30,8	43,2	22,8	23,4
flacher Schicht mit Anaërobenverschluß	16,0	20,8	22,8	23,2	9,2	26,4	22,4	22,0

Wenn auch die Kulturen in flacher Schicht mit Anaërobenverschluß puncto Säuerungsintensität nicht in allen Fällen mit den Kulturen in hoher Schicht zu konkurrieren vermögen, so ist doch eine deutliche Erhöhung der Säuregrade im Vergleich mit denjenigen in flacher Schicht ohne Sauerstoffausschluß nicht zu verkennen. Die Tatsache, daß der Sauerstoffausschluß in den langhalsigen Erlenmeyer-Kolben nicht in allen Versuchen den erwarteten Erfolg gebracht hat, findet wahrscheinlich darin ihre Erklärung, daß bei dem relativ großen Luftvolumen die Sauerstoffabsorption einige Zeit dauert. Während dieser Zeit wirkt nun der Luftsauerstoff auf die extrem niedere Schicht so kräftig ein, daß bis zur Zeit der völligen O-Absorption die Kultur in jenem Zustande ist, welcher der völligen Degeneration vorausgeht und zur Erholung eine bestimmte Zeit verlangt. Wenn nun aber der Säuregrad doch nach 48 Stunden, vom Versuchsansatz an gerechnet, bestimmt wird, dann heißt das so viel, als die Säuerung in diesen Gefäßen (flache Schicht mit Anaërobenverschluß) in den ersten Anfängen zu unterbrechen. Daß tatsächlich mit einer anfänglichen Sauerstoffwirkung in den genannten Probegefäßen gerechnet

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden muß, zeigt die bezügliche Kultur von Bacillus casei ε E, die makroskopisch und mikroskopisch dem Bilde der entsprechenden Kultur in flacher Schicht ohne O-Absorption gleichkam. Auch der Säuregrad ist der gleiche. Im vorliegenden Falle müssen wir zudem mit der geringen Virulenz des Stammes rechnen, die sich in allen Kulturen kundgibt.

Für Bacterium Güntheri finden wir die bekannten Verhältnisse bestätigt.

In einer weiteren Folge von Untersuchungen sollte der Einfluß des durch zeitweises Schütteln der Kultur in die letztere eingebrachten Sauerstoffes geprüft werden. Wir verwendeten zu diesem Zwecke die „Kultur in hoher Schicht". Mit dem Schütteln suchten wir es so einzurichten, daß wohl eine gute Durchlüftung der Kultur stattfand, eine kräftige Erschütterung hingegen vermieden wurde. Die mit Gummizapfen versehenen Kulturgläser wurden von Zeit zu Zeit je 5 mal um ihre Querachse gedreht; durch „Sichüberstürzen" der Kulturflüssigkeit konnte genügend Luft eingepeitscht werden, um, wie wir sehen werden, in extremen Fällen die Gärung von Bacillus casei ε zum Stillstand zu bringen. Um ganz sicherzugehen, wurden mit einem Apparat Parallelversuche ausgeführt, der erlaubte, unter anaëroben Verhältnissen mit Anwendung des Pyrogallolverschlusses die Kultur in gleicher Weise zu schütteln, wie die gewöhnlichen Kulturen in hoher Schicht. Der betreffende Aparat gestattete ferner, nachdem die Sauerstoffabsorption als sicher vollendet zu betrachten war, die Impfung unter Beibehaltung der einmal erlangten anaëroben Verhältnisse vorzunehmen. Es wird also die Kultur von Anfang an unter Sauerstoffabschluß stehen und zudem wird durch die innige Berührung, die die Kultur beim Schütteln mit der sauerstofffreien Atmosphäre erfährt, der in derselben gelöste freie Sauerstoff noch absorbiert.

Folgende Tabelle bringt die betreffenden Untersuchungsresultate:

Versuch No. 30.

Nährböden: 1-proz. Peptonschotten.
Versuchsdauer: 48 Stunden
Versuchsansatz: Die Kultur des Schüttelapparates (25 ccm Nährboden in hoher Schicht) wird geimpft. Die übrigen Proben (25 ccm) in großen Reagenzgläsern mit einer Kulturhöhe von 70 mm werden nachdem mit sterilen Gummizapfen versehen, im Wasserbad temperiert und zu 42° C gestellt. Zur gleichen Zeit beginnt das Schütteln, das alle halbe Stunden wie oben beschrieben, ausgeführt wurde. (Während 7—8 Stunden der Nacht wird nicht geschüttelt.) Zur gleichen Zeit werden noch Kontrollen in hoher Schicht angesetzt, die nicht geschüttelt werden.
Versuchstemperatur: 42° C.

Verwendeter Impforganismus	Datum des Versuchsansatzes	Säuregrad der frischen Nährlösung	Säuregrad nach 48 Stunden		
			In hoher Schicht nicht geschüttelt	aërob geschüttelt	anaërob geschüttelt
Bacillus casei ε A	18. VII. 8h Mgs.	5,6	28,4	8,4	34,8
Bacillus casei ε B	23. VII. 8h Mgs.	5,6	30,0	9,0	44,0
Bacillus casei ε F	22. IX. 11h Abd.	6,2	40,2	14,8	35,2
Bacillus casei ε F	1. X. 11h Mgs.	9,2	38,8	16,4	35,6

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus diesen Zahlen geht deutlich hervor, daß das Schütteln als solches in sauerstofffreier Atmosphäre keinen nachweisbar schädlichen Einfluß auf die Gärintensität von Bacillus casei ε ausübt. Im Gegensatz dazu ist um so auffallender der Einfluß des Schüttelns in sauerstoffhaltiger Atmosphäre. Hier wird die Säuerung, obwohl die Kulturen sonst in hoher Schicht sind, in den ersten Anfangsstadien lahmgelegt. Einen ebenso einwandsfreien Beweis für die hier in Rede stehende Schädigung durch Sauerstoff lieferte die mikroskopische Kontrolle. Die mit Luft geschüttelten Kulturen zeigten wieder jene bekannten, kurzen Zellformen, deren Auftreten wir für die Kulturen in flacher Schicht gewöhnt waren; die anaërob geschüttelten Proben enthielten hingegen besonders lange, kräftige, zur Fadenbildung neigende Formen.

Diese Versuche wurden nicht auf Bacillus Güntheri ausgedehnt, weil, wie wir zeigen werden, die Gärintensität dieser Bakterienart auch beim Schütteln in sauerstoffhaltiger Atmosphäre keine Schädigung erkennen läßt.

Im weiteren mußte uns die Frage interessieren, wie sich die beiden Organismen verhalten bei Anwendung einer zeitweisc unterbrochenen Sauerstoffzufuhr.

Zu diesem Zwecke wurde eine Anzahl Kulturen einerseits bis zu einem bestimmten, andererseits von einem bestimmten Zeitpunkte an so fleißig als möglich geschüttelt, im übrigen aber gleich behandelt.

Versuch No. 31.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 6,0.
Impfkulturen: Bac. casei ε E und F.
Bact. Güntheri e und f.
20 Stunden alte Peptonschottenkulturen.
Versuchsansatz: Alle Kulturen in hoher Schicht (70 mm). Nach dem Impfen werden sämtliche Watteverschlüsse durch sterile Gummizapfen ersetzt.
Versuchstemperatur: Bac. casei ε 42° C, Bact. Güntheri 30° C.
Versuchsdauer: 48 Stunden.

	ccm $\frac{n}{4}$ KOH pro 100 ccm Kultur				
	von — resp. bis — Stunde	Bact. Güntheri f	Bact. Günth. e	Bac. casei ε B	Bac. casei ε A
Geschüttelt bis zur xten Stunde, vom Versuchsansatz an gerechnet	10.	21,2	20,4	34,0	32,8
	24.	20,8	21,2	15,2	13,2
	36.	20,8	21,2	16,0	11,2
	48.	20,8	21,6	12,8	6,4
Geschüttelt von der xten Stunde an, vom Versuchsansatz an gerechnet	0	21,2	21,2	37,2	42,8
	10.	21,2	20,8	18,8	14,8
	24.	20,4	20,6	36,4	30,8
	36.	21,0	21,2	38,8	36,8

Die verwendeten Bakterienarten zeigen die bekannten Gegensätze. Bact. Güntheri scheint nicht nachweisbar auf das Schütteln bezw. auf die damit verbundene Luftzufuhr zu reagieren. Für Bac. casei ε können wir konstatieren, daß die Säuerungsintensität nicht im direkten Verhältnis zur Dauer des Schüttelns steht, daß vielmehr, je früher mit demselben eingehalten wird, desto eher der Beginn der Gärung noch möglich ist. Die kontinuierlich geschüttelten Kulturen lassen ein eigentliches Aufkommen der Gärung nicht erkennen. Auch beim nachträglichen Einsetzen des Schüttelns gerät die Gärung ins Stocken, vorausgesetzt, daß mit dem Schütteln nicht zu lange gewartet wird.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Frage, ob beim Beginn des Schüttelns ein sofortiger Stillstand der Gärung eintritt, sollte durch den folgenden Versuch beantwortet werden.

Versuch No. 32.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 6,0.
Impfkultur: Bac. casei ε A und ε B.
Versuchsansatz: Im großen und ganzen wie im vorhergehenden Versuch. Um dem Einwand zu begegnen, es möchte vom Gummizapfen irgend eine, die Milchsäuregärung hemmende Wirkung ausgehen, wurden zwei Proben während des Versuches auf den Zapfen gestellt. Im übrigen wurde jedesmal beim Beginn des Schüttelns einer Probe in einer Parallelprobe der Säuregrad bestimmt. Die weiteren Details des Ansatzes sind aus dem vorhergeheuden Versuch und der Tabelle XV selbst ersichtlich. Zur Nachtzeit wurde während 6 Stunden überhaupt nicht geschüttelt.
Versuchstemperatur: 42—40° C.
Beginn des Versuches: Bac. casei ε A 3. Juli 9 Uhr morgens,
Bac. casei ε B 4. Juli 10 Uhr morgens.
Versuchsdauer: 48 Stunden.

Art der Kulturbehandlung	Probe No.	Bacillus casei ε A: Beginn des Schüttelns	Säuregrad nach 48 Stund. 1	Säuregrad nach 48 Stund. 2	Säuregrad beim jeweiligen Beginn des Schüttelns	Bacillus casei ε B: Beginn des Schütteln	Säuregrad nach 48 Stund. 1	Säuregrad nach 48 Stund. 2	Säuregrad beim jeweiligen Beginn des Schüttelns
Probe geschüttelt	I	3. VII. 1^h Nm.	8,4	9,2	6,4	4. VII. 2^h Nm.	9,2	9,2	8,0
„ „	II	3. VII. 5^h Abd.	10,0	10,0	8,8	4. VII. 6^h Abd.	17,2	14,0	10,0
„ „	III	3. VII. 9^h Abd.	16,0	16,4	11,6	4. VII. 10^h Abd.	28,4	31,6	13,2
„ „	IV	4. VII. 6^h Mgs.	39,2	37,2	23,6	5. VII. 7^h Mgs.	32,8	33,8	27,6
„ „	V	4. VII. 2^h Nm.	40,0	40,6	27,0	5. VII. 3^h Nm.	35,2	34,4	28,6
Probe auf d. Zapfen gestellt	VI	Nicht geschüttelt	39,6	40,0	—	Nicht geschüttelt	37,2	38,4	—
Kontrolle in hoher Schicht	VII	Nicht geschüttelt	37,2	39,2	—	Nicht geschüttelt	32,0	44,0	—
Kontrolle „ flacher „	VIII	Nicht geschüttelt	7,2	7,2	—	Nicht geschüttelt	6,8	7,0	—

Ein Einfluß des Gummizapfens existiert nicht; mit dem Beginn des Schüttelns tritt im allgemeinen, wenn dieses nicht zu frühzeitig einsetzt, kein momentaner Stillstand der Gärung ein; dieselbe vermag sich vielmehr um so besser zu behaupten, je später mit dieser Operation eingegriffen wird. Nach unseren Resultaten der Versuche 25 ist das leicht verständlich.

Wie schon aus früheren Mitteilungen (p. 44) hervorgeht, findet in den ε-Kulturen trotz extremen Sauerstoffzutrittes anfangs eine Keimzunahme statt. Es erübrigt uns nun noch, diese Beobachtung zahlenmäßig zu belegen. Auf eigentliche Keimzahlbestimmungen wollten wir von vornherein verzichten, da Bac. casei ε sich als äußerst empfindlicher Organismus erwiesen hat und zu befürchten war, daß mit den gewöhnlichen festen Nährböden eine Menge noch gärkräftiger Keime nicht zur Zählung gelangen würde; es sollte sich hier aber um eine Bestimmung der an Keimzahl überhaupt und nicht um diejenige einer Auslese besonders wachstumskräftiger Zellen handeln.

Wir wählten deshalb das einfache Zählverfahren an Hand eines gefärbten mikroskopischen Präparates. Die dem Thermostaten entnommene Probe wurde gut gemischt; nun tauchte man eine ausgeglühte Platinöse bis zu einer bestimmten Marke ein und verstrich die Impfmenge mög-

lichst gleichmäßig auf ein gut entfettetes Deckgläschen. Das an der Luft getrocknete fixierte Präparat wurde dann mit Karbolfuchsin gefärbt. Die Deckgläschen wurden genau bezeichnet und in entsprechender Reihenfolge mikroskopiert. Das mittelst Oelimmersion eingestellte Bild wurde abgesucht, die Keime per Gesichtsfeld gezählt und notiert. Nun verschob man den Objektträger unter Ausschaltung der mikroskopischen Kontrolle, stellte wieder scharf ein, zählte und notierte. Auf diese Weise wurden je 30 Zählungen ausgeführt und aus den Notierungen das Mittel per Gesichtsfeld berechnet. Es mußte so ein approximatives Bild von der Keimzahlzunahme erhalten werden.

In den nachfolgenden Tabellen ist das 10-fache der mittleren Keimzahl per Gesichtsfeld angegeben.

Versuch No. 33.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 6,0

Impfkulturen: Versuch A Bac. casei ε F.
„ B Bac. casei ε E.
20 Stunden alte Peptonschottenkulturen.

Versuchsanstellung: Für jeden Versuch wurden je 8 Proben in flacher Schicht (12 mm), 16 Proben in hoher Schicht (70 mm) in den Thermostaten gestellt; letztere wurden mit Gummizapfen verschlossen, 8 derselben wurden von Anfang an alle ½ Stunden geschüttelt. Nach bestimmten Zeitabschnitten kam je eine Probe der 3 Reihen zur Untersuchung auf Keimzahl und Säuregrad.

Ansatz: Versuch A 22. September, 9 Uhr morgens.
„ B 18. Juli, 8 Uhr morgens.

Versuchstemperatur: 42° C.

(Siehe Tabelle A u. B p. 401.)

Es findet also zweifellos in den stark gelüfteten Proben auch eine Keimzahlzunahme statt, die von einem bestimmten Höhepunkte an ziemlich konstant bleibt. Die kleineren Differenzen sind wohl eher durch Fehler der etwas rohen Zählmethode bedingt. In Versuch A wurde leider eine etwas zu große Oese verwendet, was der Zuverlässigkeit dieser Methode schnell eine Grenze setzte. Sobald es sich aber um niedere Keimzahlen handelt, wie in Versuch B, dürfen die Zahlen doch etwelchen Vergleichswert beanspruchen. Im übrigen war unsere Absicht nicht, den ganzen Gärverlauf zu verfolgen, sondern nur zahlenmäßig festzustellen, daß wirklich in allen Proben eine Keimzahlzunahme statthat. Vollen Wert beanspruchen die Angaben über die Säuregrade, die in ihrer Folge den Gärverlauf darstellen. Nicht unerwartet ist der schleppende Verlauf für die geschüttelten Proben. Die 2mal 6 Stunden der beiden Nächte, während welcher wiederum nicht geschüttelt wurde, reichten nicht hin zur Erholung der Kulturen.

Wir versuchten dieses Zählverfahren auch für Bact. Güntheri zu verwenden, gelangten aber wegen der Eigenschaft des letzteren, Ketten und ganze Zellhaufen zu bilden, zu keinem befriedigenden Resultate, weshalb wir auf die Wiedergabe desselben verzichten. Die betreffende Tabelle bietet aber insofern noch Interesse, als sie den Gärverlauf der geschüttelten Proben dieser Bakterienart darstellt, weshalb wir den brauchbaren Teil des Versuches nicht unterdrücken möchten.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch A.

Proben vom Versuch ausgeschalten und untersucht		beim Ansatz I	22.IX. 3^h Nm. II	22.IX. 9^h Abd. III	23.IX. 7^h Mgs. IV	23.IX. 2^h Nm. V	23.IX. 9^h Abd. VI	24.IX. 8^h Mgs. VII	24. IX. 3^h Nm. VIII
Säuregrade	In flacher Schicht	6,0	7,2	8,0	10,4	11,6	14,8	11,6	12,0
	In hoher Schicht, geschüttelt	6,0	8,0	11,2	12,4	14,8	14,4	14,8	15,4
	In hoher Schicht, nicht geschüttelt	6,0	8,0	13,6	28,4	37,2	40,8	48,4	48,0
10-fache Keimzahl per Sehfeld	In flacher Schicht	—	10,0	13,0	28,7	28,5	32,0	—	—
	In hoher Schicht, geschüttelt	—	7,0	5,3	42,3	80,5	—	—	—
	In hoher Schicht, nicht geschüttelt	—	4,3	9,0	46,7	59,0	—	—	—

Versuch B.

Proben vom Versuch ausgeschalten und untersucht		beim Ansatz I	18. VII 1^h Nm. II	18.VII. 6^h Abd. III	18.VII.11^h Abd. IV	19.VII.7^h Mg. V	19. VII. 4^h Nm. VI	19.VII. 10^h Abd. VII	20.VII. 8^h Mgs. VIII
Säuregrade	In flacher Schicht	5,4	5,2	5,4	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
	In hoher Schicht, geschüttelt	5,4	6,2	6,8	7,6	8,0	9,2	9,2	9,2
	In hoher Schicht, nicht geschüttelt	5,4	6,6	7,6	9,2	18,0	23,6	25,6	28,8
10-fache Keimzahl per Sehfeld	In flacher Schicht	—	5,9	10,0	10,0	14,0	19,0	10,6	9,0
	In hoher Schicht, geschüttelt	—	4,5	20,0	28,0	39,0	48,0	31,0	27,0
	In hoher Schicht, nicht geschüttelt	—	5,0	30,0	75,0	81,0	117,0	144,0	115,0

Versuch No. 34.

Nährboden: 1 Proz. Peptonschotte. Säuregrad 6,6.
Impfkultur: Bact. Güntheri e 24 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Versuchsansatz: Wie oben.
Versuchstemperatur: 30° C.

Probe vom Versuch ausgeschalten und untersucht	24. I.X 10^h Mgs. I	24. IX. 6^h Nm. II	24. IX. 10^h Abd. III	25. IX. 7^h Mgs. IV	25. IX. 6^h Abd. V	26. IX. 8^h Mgs. VI	26. IX. 2^h Nm. VII	27. IX. 8^h Abds. VIII
In flacher Schicht	6,6	7,2	6,6	7,6	9,2	9,2	9,2	9,6
In hoher Schicht, geschüttelt	6,6	8,0	8,6	18,8	21,2	22,0	23,2	23,2
In hoher Schicht, nicht geschüttelt	6,6	8,0	8,6	19,2	21,2	20,4	23,2	23,0

Der in diesem Falle benutzte Stamm verhält sich insofern etwas abnormal, weil er eine seiner Art sonst nicht eigene Empfindlichkeit gegenüber dem Sauerstoff zeigt. Die Kulturen in flacher Schicht äußern hier genau

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das gleiche Verhalten, wie wir es von Bac. casei ε in den entsprechenden Kulturen gewohnt sind. Eine deutliche Trübung der Nährlösung, die äußerst schwache Säurezunahme und die Kontrolle des mikroskopischen Bildes gaben Aufschluß über die stattgehabte kräftige Vermehrung; die Gärung scheint jedoch nicht in Fluß gekommen zu sein. Uebrigens sind wir diesem Organismus schon im Versuche No. 28 begegnet, wo er das gleiche Verhalten zeigte. Das Schütteln der Kultur scheint auch auf ihn keinen Einfluß auszuüben, indem der Gärverlauf der geschüttelten Kulturen genau demjenigen der nicht geschüttelten entspricht. Hier tritt der Unterschied in der Sauerstoffempfindlichkeit dieses Organismus gegenüber Bac. casei ε wieder klar hervor.

In den vorhergehenden Versuchen wurde eine Art der Lüftung angewandt, die die Kultur nie zur Ruhe kommen läßt. Wir suchten nun einen zeitweisen Lüftungswechsel auf folgende Weise zu erlangen, die ein längeres Verweilen der Kultur in Ruhe, d. h. einen gewissen Gleichgewichtszustand in der Entwickelungsbedingung gestattete.

Dazu benutzten wir die in Versuch No. 29 beschriebenen Probegefäße, die langhalsige Erlenmeyer-Kolben darstellen. Dieselben wurden in gewohnter Weise sterilisiert, mit 25 ccm Nährlösung versehen und noch einmal $^1/_4$ Stunde im Dampftopf erhitzt. Nach der Impfung ersetzten wir die Wattepropfen durch frisch sterilisierte Gummistopfen und konnten nun diese Gefäße sowohl für Kulturen in flacher als auch in hoher Schicht verwenden, je nachdem dieselben auf die Bodenfläche oder auf den Zapfen gestellt wurden.

Versuch No. 35.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 8,0.
Impfkulturen: Bac. casei ε F 16 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Versuchsansatz: Von 8 der oben näher beschriebenen geimpften Gefäßen kamen 4 auf den flachen Boden gestellt (Kultur in flacher Schicht 10 mm hoch) und die anderen 4 auf den Zapfen gestellt (Kultur in hoher Schicht 70 mm hoch) zum Ansatz. Nach bestimmten Zeitabständen wurde je eine Probe dieser Viererreihen umgekehrt, womit ein entsprechender Lüftungswechsel stattfand, nach Maßgabe des Luftzutrittes bei flacher resp. hoher Schicht. Mit zu gleicher Zeit angesetzten Kulturen in flacher und hoher Schicht (++ und +) wurde zur Zeit des Wechsels der momentane Säuregrad ermittelt, so daß eine Kontrolle möglich war über die Veränderung des letzteren von den betreffenden Zeitpunkten an.

Der Lüftungswechsel fand statt:
Kultur I: 6 Stunden nach Ansatz
" II: 12 " " "
" III: 22 " " "
" IV: 30 " " "

Versuchstemperatur: 41—42° C.
Versuchsdauer: 48 Stunden.
Impfung: Große Platinöse.

Termin der Säurebestimmung		Art des Ansatzes	Kulturen No. I	II	III	IV
Säuregrad, zur Zeit des Lüftungswechsels bestimmt		In flacher Schicht	8,4	10,8	13,2	12,8
		In hoher Schicht	8,8	10,8	18,8	22,8
Säuregrad, nach 48 Stunden bestimmt	Proben mit Lüftungswechsel	In flacher Schicht angesetzt	55,6	37,8	16,8	16,2
		In hoher Schicht angesetzt	12,0	17,6	49,6	55,2
	Proben ohne Lüftungswechsel (Kontrollen)	In flacher Schicht	12,4	12,8	12,4	–
		In hoher Schicht	30,4	28,0	28,0	31,4

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bevor wir zu einer ausführlichen Besprechung dieser Tabelle übergehen, möchten wir noch einen in gleicher Weise angelegten Versuch mitteilen, dessen Anstellung uns in Hinsicht auf die bedeutungsvollen Resultate des vorliegenden als wünschenswert erschienen war.

Versuch No. 36.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 6,0.
Impfkultur: Bac. casei ε E 19 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Versuchsansatz: Wie bei Versuch No. 35.

Zeitpunkte der Lüftungswechsel:
Kultur I: 7 Stunden nach Ansatz
„ II: 12 „ „ „
„ III: 19 „ „ „
„ IV: 24 „ „ „

Versuchstemperatur: 40—42° C.
Versuchsdauer: 40 Stunden.

Termin der Säurebestimmung		Art des Ansatzes	Kulturen No. I	II	III	IV
Säuregrad, zur Zeit des Lüftungswechsels bestimmt		In flacher Schicht	6,0	6,4	7,2	7,6
		In hoher Schicht	6,0	8,0	14,2	16,0
Säuregrad, nach 48 Stunden bestimmt	Proben mit Lüftungswechsel	In flacher Schicht angesetzt	**40,0**	**24,4**	12,0	30,4
		In hoher Schicht angesetzt	9,2	10,8	20,0	**36,0**
	Proben ohne Lüftungswechsel (Kontrollen)	In flacher Schicht	7,6	7,2	7,2	—
		In hoher Schicht	23,2	22,4	22,0	21,2

Ein frühzeitiger Wechsel von flacher in hohe Schicht (6—12 Stunden nach Ansatz) bedingt demnach die höchste Säuerungsintensität, die sogar fast doppelt so groß ist, als diejenige der gewöhnlichen Kulturen in hoher Schicht. Der gleiche Effekt ergibt sich bei denjenigen Kulturen, die von Anfang an in hoher Schicht standen und dann, aber nicht zu frühzeitig (19—24 Stunden nach Ansatz), in flache Schicht verbracht worden sind.

In diesen wichtigen Resultaten spiegeln sich früher erzielte Versuchsergebnisse wider und werden zum Teil nachträglich in klares Licht gerückt. Tabelle XIII hat uns seinerzeit die Vermutung aufgedrängt, bei durchaus günstigen Versuchsbedingungen bewirke eine bestimmte Sauerstoffspannung eine Förderung der Säuerungsintensität. Wir bemerkten dort, es scheine sich um eine gewisse Reizwirkung minimaler Sauerstoffmengen zu handeln. Durch vorliegende Resultate wird eine fördernde Wirkung wechselnden Luftzutrittes außer Zweifel gesetzt.

Schon Beijerinck (24) hat auf die fördernde Wirkung minimaler Sauerstoffmengen auf die Wachstumsenergie obligat anaërober Organismen hingewiesen und erklärt diese Erscheinung mit seiner Theorie der „Mikroaërophylie"; danach sind auch die obligaten Anaëroben dankbar für die Darreichung bestimmter geringer Mengen freien Sauerstoffes. In unserem Falle nun handelt es sich um einen Typus, der dem obligat anaëroben näher steht als dem fakultativ anaëroben im gewöhnlichen Sinne. Es entsteht nun die Frage, ob auch hier die erwiesene Förderung von Wachstum und Gärung durch eine begrenzte Sauerstoffwirkung als Microaërophylie gedeutet werden kann.

Unsere Untersuchungen weisen unzweideutig darauf hin, daß für Bac. casei ε die Erscheinung der Gärungsförderng von einer anfänglich

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schädlichen Wirkung des Sauerstoffes eingeleitet wird. Die Kultur erwirbt sich die fördernde Kraft offenbar in Wechselwirkung bezw. im Kampfe mit dem Sauerstoff.

Die anfangs unter intensivem Sauerstoffzutritt stehenden Proben zeigten, wie immer, eine rege Keimvermehrung (siehe auch Versuche No. 33), so daß sie teilweise vor den in hoher Schicht angesetzten Trübung aufwiesen; diese Vermehrung führte auch hier nicht zum Beginn einer kräftigen Gärung, wie der Endsäuregrad der in flacher Schicht verweilten Kulturen beweist. Die Kultur ist jetzt in einem Zustande, in welchem sie sich trotz aller Anstrengung, lebenskräftigere Zellen zu schaffen, der Sauerstoffwirkung nicht erwehren kann. Eine Gärung ist unter solchen Verhältnissen unmöglich. In diesem Zustand krankhaft gesteigerter Lebenstätigkeit verharrt die Kultur nun eine bestimmte Zeit; wird noch während dieser letzteren die Sauerstoffspannung dadurch herabgesetzt, daß die Kultur in hohe Schicht gebracht wird, so kommt, ausgelöst durch die krankhaft gesteigerte Lebensenergie der Kultur und gewissermaßen als Nachwirkung des Sauerstoffreizes eine außergewöhnlich kräftige Gärung zu stande.

Während wir, wie schon früher, in den Kontrollproben in flacher Schicht zu jeder Zeit die bekannten auffallend kurzen Stäbchenformen fanden, wiesen die nachträglich in hohe Schicht gebrachten Kulturen besonders kräftige, lange Zellformen auf.

Wird nun der Wechsel von flacher in hohe Kulturschicht erst nach einer bestimmten Zeit vorgenommen (20 Stunden), so scheint eine Erholung der Kultur in besprochenem Sinne selbst durch Verminderung des Luftzutrittes (hohe Schicht) nicht mehr oder doch nur so schleichend möglich zu sein, daß nach 24 Stunden, zur Zeit der Versuchsunterbrechung, die Gärung noch in ihren ersten Anfängen steckt. Die Kultur hatte eben schon etwas zu stark gelitten unter dem Einflusse relativ großer Sauerstoffmengen, wie sie die Kultur in flacher Schicht wirken läßt. — Daß eine rechtzeitige Eliminierung der Sauerstoffwirkung zur Erholung der Kultur führen kann, zeigt folgender Versuch. Man setzt nach ca. 12 Stunden seit der Impfung einer gewöhnlichen Kultur von Bac. casei ε in flacher Schicht auf irgend eine Art einen Anaërobenverschluß auf; nach kurzer Zeit setzt eine kräftige Säuerung ein, die nach 36 Stunden unter den für die letzten Versuche angewendeten Verhältnissen puncto Intensität diejenige in hoher Schicht eingeholt hat.

Auch in den in hoher Schicht angesetzten Proben der Versuche 35 und 36 tritt die Gärung nicht ohne einen Kampf mit den schädlichen Einflüssen des Luftsauerstoffes ein, was sich, wie wir an Hand der Versuche No. 25 gesehen haben, in einem anfänglich schleppenden Gärverlauf äußert. Kommt nun diese Kultur (in hoher Schicht) in flache Schicht, und zwar erst zu einer Zeit, da die Säuerung schon kräftig im Flusse ist, so wird der intensive Sauerstoffzutritt sich in erhöhtem Maße als Giftwirkung geltend machen; die nun gärkräftige Kultur sucht sich der letzteren zu erwehren, wobei vermutlich nicht nur der gesamte Stoffumsatz, sondern insbesonders die Spaltungsatmung außergewöhnlich gesteigert wird. Das mikroskopische Bild zeigte auch hier kräftige, relativ lange, häufig stark verkrümmte Zellen.

Aehnliche Versuche wurden mit Bacterium Güntheri aus schon mehrmals erwähnten Gründen nicht angestellt.

Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Resumé.

1) Für Bact. Güntheri konnte kein schädigender Einfluß des Schüttelns auf dessen Gärtätigkeit nachgewiesen werden.

2) Mäßiges Schütteln der Kultur von Bac. casei ε in sauerstofffreier Atmosphäre ist von keinem nachweisbar schädigenden Einfluß auf die Säuerungsintensität.

3) Mäßiges, kontinuierliches Schütteln von Kulturen des letztgenannten Organismus in sauerstoffhaltiger Atmosphäre erzielt den gleichen Effekt betreffs Gärintensität, wie ein erhöhter Sauerstoffzutritt durch Kultur in flacher Schicht.

4) Eine vollständige Unterdrückung der Gärung durch Schütteln ist um so weniger möglich, je später mit dem Schütteln begonnen wird (von der Impfung an gerechnet), d. h. je kräftiger die Kultur schon in Gärung ist.

5) Auch bei stark durchlüfteten Proben von Bac. casei ε findet anfangs eine lebhafte Zellvermehrung statt, die, ähnlich wie der Säuregrad, eine bestimmte Grenze nicht überschreitet.

6) Durch einen entsprechenden Wechsel in der Luftzufuhr kann die Säuerungsintensität bei Kulturen des Bac. casei ε bedeutend gesteigert werden.

7. Versuche mit Abstufung der Sauerstoffwirkung durch Anwendung zunehmender Höhe der Kulturschicht.

Da aus allen bisherigen Versuchen übereinstimmend hervorgegangen war, daß einerseits reichliche Lüftung eine ordentliche Gärtätigkeit des Bac. casei ε überhaupt nicht aufkommen läßt, andererseits künstlich geschaffene anaërobe Verhältnisse regelmäßig eine kräftige Säureproduktion im Gefolge haben, da aber ferner die letzten und zum Teil auch frühere Versuchsreihen unzweifelhaft dargetan haben, daß bei einer in gewissem Sinne beschränkten Luftzufuhr das unter anaëroben Verhältnissen konstatierte Säureproduktionsvermögen noch bedeutend gesteigert wird, so durfte angenommen werden, daß sich dieses Verhältnis zum Sauerstoff auch bei Kulturen in verschieden hoher Schicht widerspiegeln würde. Es mußte eine bestimmte Kulturhöhe geben, bei welcher die Sauerstoffwirkung klein genug ist, um eine Erholung der Kultur nicht auszuschließen, aber groß genug, um die Wachstums- und Gärungsenergie auf ein Maximum zu steigern.

Sogenannte Soxhletsche Fläschchen erhielten in steigenden Mengen 10, 20, 30, 40 etc. ccm Nährlösung. Da, wie wir oben zeigen konnten, die Impfmenge von Einfluß sein kann (p. 33), entschlossen wir uns für ein Impfverfahren, das gestattete, die Impfmenge im Verhältnis zur Menge der Nährlösung zu bemessen. Mit einer kurz vor der Impfung in der Hitze sterilisierten, am Mundstück mit einem Wattezäpfchen versehenen, 1 ccm fassenden Pipette wurde die Impfkultur aufgesogen, und dann wurde sie tropfenweise so auf die Fläschchen verteilt, daß je 10 ccm Nährflüssigkeit einen Tropfen Impfkultur erhielten.

Versuch No. 37.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte, Säuregrad 6,4.
Impfkultur: Bac. casei ε F. 20 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Versuchsansatz: Siehe oben.
Versuchstemperatur: 42° C.
Versuchsdauer: 48 Stunden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Säuregrad nach 48 Stunden.

Kubikcentimeter Kultur:	10	20	30	40	50	60	70
Millimeter Kulturhöhe	8	15	21	28	34	39	44
Versuch I	13,4	17,0	24,6	33,0	34,4	**47,6**	**46,4**
Versuch II	11,6	20,6	23,4	28,4	33,2	**47,6**	**46,2**

Die Steigerung der Säuerungsenergie mit Zunahme der Kulturschichthöhe bezw. mit Abnahme der Sauerstoffwirkung geben beide Versuche in äußerst klarer Weise an. Zwischen 50 und 60 ccm Kulturflüssigkeit resp. 34 und 39 mm Flüssigkeitshöhe ist ein bedeutender Sprung, der in beiden Versuchen den gleichen Säuregrad erreichen läßt. Offenbar liegt ungefähr hier jener vermutete Höhepunkt. Wenn auch tatsächlich die folgenden Säuregrade wieder tiefer sind, so erlaubt uns die im aufsteigenden Sinne zu wenig ausgedehnte Reihe vorläufig nicht, endgültige Schlüsse zu ziehen. Der nächste Versuch wurde angestellt, um beweiskräftigere Belege zu bringen.

Versuch No. 38.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 8,0.
Impfkultur: Bac. casei ε F. 20 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Versuchsansatz: Wie im vorhergehenden Versuch.
Versuchstemperatur: 42° C.
Versuchsdauer: 48 Stunden.

Der besseren Uebersicht halber geben wir die Resultate direkt in graphischer Darstellung.

Milchsäuregärung in verschieden hoher Kulturschicht für Bac. casei ε F.

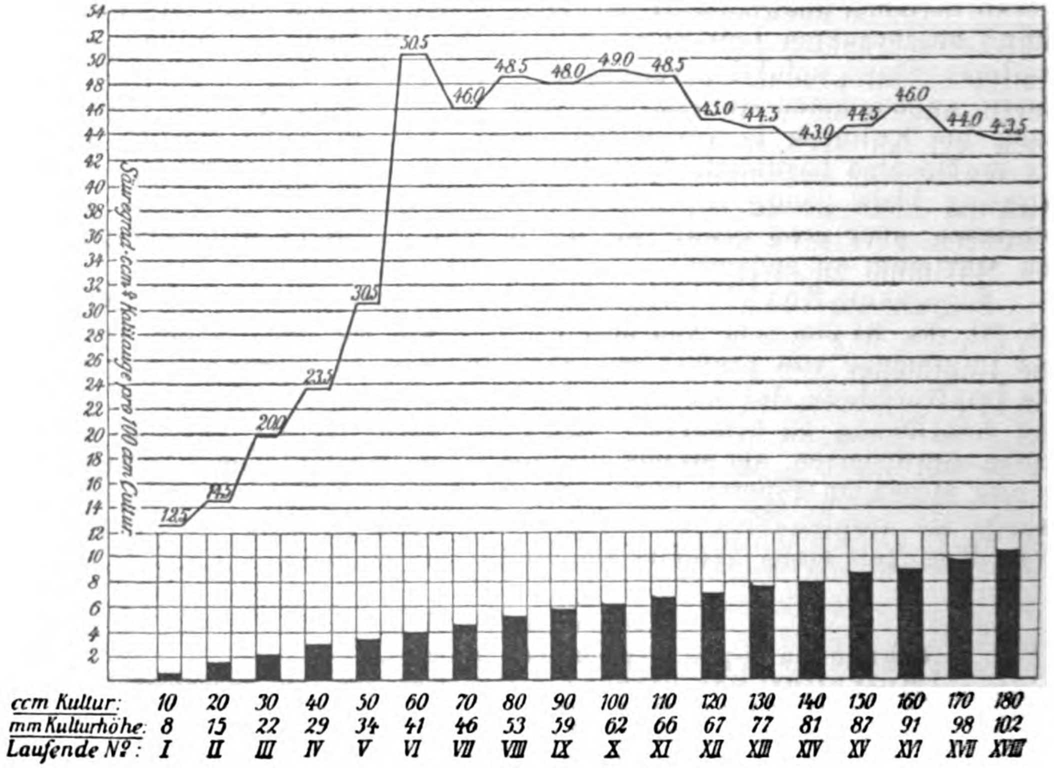


Fig. 18.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bevor wir diese Kulturen auf Säuregrad prüften, unterwarfen wir sie der mikroskopischen Kontrolle. Für die ersten 5 fanden wir vorherrschend kurze, vereinzelt stehende Stäbchen. No. VI war im mikroskopischen Bilde so verschieden gegenüber V, daß man hätte meinen können, zwei grundverschiedene Organismen vor sich zu haben, trotzdem der Höhenunterschied der beiden Kulturschichten nur 7 mm betrug. Waren bei V noch meist ziemlich kurze Stäbchen, so enthielt VI lange, zur Kettenbildung neigende Zellen. Dieser Erfolg ließ nun bestimmt erwarten, daß hier die vermutete Grenze sei. Für die folgenden Proben fiel das mikroskopische Bild ziemlich einheitlich, entsprechend dem bei VI gefundenen aus. Bei der Säurebestimmung trat bei den ersten Nummern die bekannte gleichmäßige Zunahme auf; den Resultaten der mikroskopischen Prüfung voll und ganz entsprechend, kam es zwischen V und VI zu einem kräftigen Sprung von 20 Säuregraden, und was noch besonders hervorzuheben ist, dieser Säuregrad wurde von keiner Kultur mehr erreicht. Fassen wir nun Versuch No. 37 wieder ins Auge, so sehen wir, daß dort dieser Höhepunkt genau an derselben Stelle ist (zwischen 50 und 60 ccm Kulturflüssigkeit).

Während bei Probe VI gerade diejenige Sauerstoffmenge wirken konnte, die in optimalem Maße jenen Reiz auf Zustand und Gärintensität der Kultur geltend macht, werden mit höher werdender Kulturschicht immer mehr anaërobe Verhältnisse geschaffen. Es nähert sich also der Kulturzustand immer mehr jenem unter künstlich hergestellter Anaërobiose (Anaërobenverschluß), und wir haben für letztgenannte Proben auch immer kleinere Säuregrade gefunden, als für diejenigen mit Luftzutritt in hoher Schicht (Versuch No. 25). Dementsprechend werden von einer gewissen Höhe der Kulturschicht an die Verhältnisse für eine kräftige Milchsäuregärung nach und nach ungünstiger, um dann eine gewisse Konstanz zu erreichen, wenn die Schichthöhe so groß geworden ist, daß der zutretende Sauerstoff den Verlauf der sich in der hohen Schicht abspielenden anaëroben Prozesse nicht mehr zu beeinflussen vermag. Da die höchste Säureproduktion auf Grund eines Zusammenwirkens von einem bestimmten Kulturvolumen mit einer bestimmten, durch die Oberfläche der Kulturflüssigkeit bedingten Sauerstoffmenge stattfindet, so muß die für den vorliegenden Versuch gefundene, jener höchsten Säureproduktion entsprechende Höhe von ca. 44 mm für cylindrische Gefäße von beliebigem Querschnitte dieselbe, d. h. eine konstante sein, und kann für andere, z. B. konische Gefäße, durch Rechnung ermittelt werden.

Resumé.

1) Bei relativ niederer Schichthöhe der Kultur von Bac. casei ε findet eine nach Maßgabe des Sauerstoffzutrittes verzögerte Milchsäuregärung statt.

2) Mit zunehmender Schichthöhe verliert sich die schädigende Einwirkung des Sauerstoffes rasch, um bei einer Schichthöhe von ca. 40 mm (in den betreffenden Versuchen bei 44 mm) fast unvermittelt eine die Gärung fördernde Richtung einzuschlagen. Es handelt sich bei diesem Wendepunkt offenbar um eine Sauerstoffwirkung, die zu gering ist, um die Tätigkeit des Gärungsorganismus zu beeinträchtigen, aber groß genug, um ihn zu vermehrter Anstrengung und damit zu erfolgreicher Gegenwehr zu reizen.

3) Läßt man die Schichthöhe weiter zunehmen, so wird auch die Menge des zuströmenden Sauerstoffes im Verhältnis zum Volumen und

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

damit jener Reiz immer geringer, und nach und nach wird der letztere so unbedeutend, daß die Kulturen, obschon sie dem Luftzutritt ausgesetzt sind, sich in jeder Beziehung wie Kulturen bei anaërober Züchtung verhalten.

8. Milchsäuregärung bei extremem Sauerstoffausschluß.

Es erübrigt uns nun noch, nachdem eine unter bestimmten Verhältnissen die Milchsäuregärung fördernde Rolle des Sauerstoffes nicht mehr angezweifelt werden kann, zu untersuchen, ob bei möglichst vollständigem und dauerndem Sauerstoffausschluß die normale Gärtätigkeit sich mehrere Generationen hindurch erhält. Zu diesem Zwecke mußte ein Verfahren angewendet werden, das in möglichst einwandfreier Weise die denkbar weitgehendste Entziehung des freien Sauerstoffes erlaubt und zudem gestattet, ohne Unterbrechung der einmal hergestellten anaëroben Verhältnisse eine successive Weiterimpfung vorzunehmen. Diesen Bedingungen wird am ehesten gerecht ein von R. Burri und J. Kürsteiner[1]) ausgearbeitetes Verfahren, das in einer nächstens zu veröffentlichenden Arbeit von J. Kürsteiner genauer beschrieben wird.

Es handelt sich dabei um gewöhnliche Reagenzröhrchen, welche zum Zwecke des Sauerstoffausschlusses in oben angegebener Weise mit Kali-Pyrogallol-Wattepfropfen versehen und nachher mit dem Gummistopfen verschlossen werden. Mehrere solcher Röhrchen sind durch Querröhrchen derart zu einem starren System verschmolzen, daß nach Impfung des ersten und Verschließen sämtlicher die Impfung der folgenden im sauerstofffreien Raum zu beliebiger Zeit durch geeignete Schiefstellung des Systems successive vorgenommen werden kann. Die Nährlösung selbst wird nicht bloß durch Fernwirkung des genannten sauerstoffabsorbierenden Gemisches, sondern auch durch vorhergehende Kultur des Bacillus mesentericus von den letzten Sauerstoffspuren befreit.

Unser Versuch wurde nun auf folgende Weise ausgeführt. Ein steriles 6-gliedriges Reagenzgläsersystem (Impfreihe) wurde in der Weise mit Nährlösung (1-proz. Peptonschotte) beschickt, daß voraussichtlich die Verimpfung von einem Kulturrohr ins andere durch bloßes Neigen der Reihe möglich war. Zur gleichen Zeit versahen wir 18 einzelne sterile Reagenzgläser mit je 10 ccm Nährlösung und bildeten aus diesen in unten näher bezeichneter Weise die Reihen II, III und IV.

Reihe I	Sechsgliedriges Röhrensystem für die successive Kultur bei beständiger Anaërobiose.
Reihe II	6 einzelne Kulturgläser für gewöhnliche Weiterzüchtung (Kultur anaërob, Verimpfung bei Luftzutritt).
Reihe III	6 einzelne Kulturgläser liefern das Impfmaterial für II, damit die dort einmal anaërob verschlossenen Proben nicht mehr geöffnet zu werden brauchen, und damit zugleich eine Kontrolle des zur Zeit der verschiedenen Ueberimpfungen vorhandenen Säuregrades stattfinden konnte.
Reihe IV	6 einzelne Kulturgläser zur successiven aëroben Verimpfung.

Nachdem noch einmal alles im Dampftopf sterilisiert, wurden von den Reihen I—III sämtliche Kulturgläser mit Bac. mesentericus geimpft; IV blieb ungeimpft. Nach ca. 20 Stunden (37° C) war in den geimpften Kulturgläsern eine kaum sichtbare Trübung eingetreten. Nun

1) Auch an dieser Stelle sei es mir gestattet, insbesondere Herrn J. Kürsteiner dafür zu danken, daß er mir in der uneigennützigsten Weise den Apparat und seine damit gelegentlich des Studiums verwandter Fragen gemachten Erfahrungen anvertraute.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurde das erste Gläschen der Reihe I (Röhrensystem) mit dem Säureorganismus geimpft, und jede einzelne Kulturröhre des Systems erhielt einen Anaërobenverschluß. Zur gleichen Zeit impften wir je 1 Gläschen der Reihen II—IV, und diese geimpften Kulturen wurden mit Ausnahme von IV ebenfalls anaërob verschlossen. Alles gelangte nun in den Thermostaten. Nach 24 Stunden ließen wir in der Impfreihe I durch Neigen derselben eine Ueberimpfung vom 1. ins 2. Kulturglas eintreten, öffneten die anaërob verschlossene Kultur der Reihe III und impften mit dieser eine zweite Röhre von Reihe II, welch letztere einen Anaërobenverschluß erhielt. Aus der gleichen geöffneten Kultur der Reihe III fand eine weitere Verimpfung statt in ein nächstes Kulturglas derselben Reihe, welches ebenfalls anaërob verschlossen wurde. Die zur Verimpfung verwendete Kultur der Reihe III diente nun noch zur Bestimmung des Säuregrades, mit welcher Operation wir den jeweiligen Stand der Säuerungsintensität zur Zeit der Weiterimpfung erhielten. Das erste Gläschen der Reihe IV lieferte nun noch Impfmaterial für das nächste dieser Reihe. Alle Kulturen gelangten zurück in den Thermostaten. Die genannten Operationen wiederholten wir alle 24 Stunden, bis nach 6mal 24 Stunden sämtliche Kulturen mikroskopisch und auf Endsäuregrad geprüft werden konnten (s. Tabelle XV).

Versuch No. 39.

Nährboden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 7,2.
Impfkultur: Bac. mesentericus als Vorkultur (Kartoffelkultur),
Bac. casei ε F. 24 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Versuchsansatz: Oben beschrieben.
Versuchstemperatur: 42° C.
Impfmenge: Mittlere Platinöse (2 mm Durchmesser).

Tabelle XV.

Datum d. Weiterimpfung:		26. IX. 4^h	27. IX. 4^h	28. IX. 4^h	29. IX. 4^h	30. IX. 4^h	1. X. 4^h
Reihe I	Säuregrad bestimmt nach Tagen	6	5	4	3	2	1
	Säuregrad	54,0	51,0	56,4	56,0	53,0	37,5
Reihe II	Säuregrad bestimmt nach Tagen	6	5	4	3	2	1
	Säuregrad	37,0	47,6	56,0	57,0	54,4	40,2
Reihe III	Säuregrad bestimmt nach Tagen	1	1	1	1	1	1
	Säuregrad	7,0	33,0	36,4	40,0	31,0	37,3
Reihe IV	Säuregrad bestimmt nach Tagen	6	5	4	3	2	1
	Säuregrad	39,0	45,5	37,5	33,0	44,0	36,5

Aus den Säurezahlen der Reihe I schließen wir, daß trotz der Züchtung unter strengstem Sauerstoffausschluß, trotz des Sauerstoffausschlusses bei den jeweiligen Verimpfungen der Organismus im 6. Kulturglas noch die gleiche Säuerungsenergie besitzt, wie im ersten Glas. Die Zahl ist zwar niedriger, aber wir müssen bedenken, daß diese 6. Kultur erst einen Tag alt ist, und aus Reihe III geht hervor, daß der jeweils

Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

in einem Tag erreichte Säuregrad ziemlich genau demjenigen des 6. Kulturglases der Reihe I entspricht. Reihe II zeigt uns, daß die jeweilige Verimpfung bei Luftzutritt an dem Resultate von Reihe I nichts ändert. Reihe III gibt uns Aufschluß über die Konstanz der Säuerungsintensität für alle 6 Impfgenerationen. Reihe IV bietet das Gleiche; nur sind die Säuregrade durchweg tiefer. Das Plus an Säuregrad bei den anderen Reihen gegenüber der letzteren muß auf Rechnung der bekannten fördernden Wirkung von Bac. mesentericus gesetzt werden. Im letzten wie im ersten Kulturgläschen der Reihen I—IV zeigten sich die gleichen kräftigen Zellformen.

Für Bacterium Güntheri kam der gleiche Versuch auf genau gleiche Weise zur Ausführung, mit der Einschränkung, daß nur eine Impfröhre (I) mit 4 Kulturgläsern benutzt wurde, weil zur Zeit nur eine solche zur Verfügung stand.

Versuch No. 40.

Nährböden: 1-proz. Peptonschotte. Säuregrad 7,2.
Impfkultur: Bacterium Güntheri f. 20 Stunden alte Peptonschottenkultur.
Versuchsansatz: (wie im vorhergehenden Versuch).
Versuchstemperatur: 30° C.

Tabelle XVI.

Datum der Weiterimpfung		29. IX. 4h	30. IX. 4h	1. X. 4h	2. X. 4h
I. Reihe	Säuregrad bestimmt nach Tagen	4	3	2	1
	Säuregrad	23,0	23,2	24,0	19,0
II. Reihe	Säuregrad bestimmt nach Tagen	4	3	2	1
	Säuregrad	23,0	23,5	23,0	19,5
III. Reihe	Säuregrad bestimmt nach Tagen	1	1	1	1
	Säuregrad	22,0	21,6	22,0	—
IV. Reihe	Säuregrad bestimmt nach Tagen	4	3	2	1
	Säuregrad	23,0	23,0	23,5	19,0

Auch für Bacterium Güntheri gelten die Schlußfolgerungen, welche in der betreffenden Versuchsreihe für Bacillus casei ε erhalten worden sind.

Resumé.

Sowohl Bacterium Güntheri als auch Bacillus casei ε zeigen in ihrer Säuerungsintensität trotz Züchtung und Weiterimpfung unter kontinuierlicher Anaërobiose in der 4. bez. 6. Impfgeneration keine Schwächung, können also unter gegebenen Verhältnissen den freien Sauerstoff vollständig entbehren.

9. Vergleichende Zusammenstellung verschiedener dem Bacterium Güntheri einerseits und dem Bacillus casei ε andererseits angehörender Stämme mit Rücksicht auf ihr Verhalten zum Luftsauerstoff.

Außer den in diesen Untersuchungen verwendeten Bakterienstämmen wurden auf ihr Verhalten gegenüber dem Luftsauerstoff von jeder Art noch 3—6 weitere Stämme untersucht.

Bacterium Güntheri: Aus 3 Milchproben isolierten wir auf weiter oben (p. 137) angegebene Art und Weise noch je 2 Stämme.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zur Identifikation wurde für diese herangezogen:
1) das mikroskopische Bild der Milchzuckeragartiefenkultur,
2) das Verhalten auf Milchzuckeragarstich (30 ° C),
3) „ „ „ Gelatinestich (20 ° C),
4) „ „ „ Milch,
5) „ „ „ 1-proz. Peptonschotte.

(Siehe Tabelle XVII p. 412, 413.)

Bacillus casei ε. Aus 3 Proben von „Naturlab" verschiedenster Herkunft wurde ebenfalls je ein Organismus auf bekannte Weise isoliert. Zur Identifikation diente:
1) das mikroskopische Bild der Milchzuckeragartiefenkultur,
2) das Verhalten in Milchzuckeragarschüttelkultur,
3) „ „ „ Milch (42 ° C und 30 ° C),
4) „ „ „ 1-proz. Peptonschotte.

(Siehe Tabelle XVIII p. 414.)

10. Besprechung der im I. Teil mit der Rohkultur erzielten Versuchsergebnisse unter Rücksichtnahme auf die mit den Reinkulturen gemachten Erfahrungen.

Die an der Rohkultur gemachte Beobachtung, daß Luftausschluß die Gärintensität im allgemeinen bis zu einem gewissen Grade erhöht, deckt sich mit den an Reinkulturen gemachten Erfahrungen. Roh- und Reinkultur zeigen in ihrem Verhalten zum Luftsauerstoff eine gewisse Abhängigkeit von der Temperatur und dem Stickstoffgehalte des Nährbodens.

Die aërobe Gärkurve für verschiedene Temperaturen der Käsereimolke (Tabelle II und III) zeigt in ihrem Verlauf große Aehnlichkeit mit der in entsprechender Versuchsreihe enthaltenen Kurve für Bac. casei ε (Tabelle VII und VIII). Der Stickstoffgehalt der Molke entspricht ungefähr dem der Nährlösung II in der soeben genannten Versuchsreihe. Der Verlauf der Kurve für die Reinkulturen deckt sich besonders gut mit jenem der aëroben Kurve der Rohkultur (Tabelle II) bei den höheren Temperaturen. Es vermehrt dies die Berechtigung, dem Bac. casei ε für die spontane Gärung der Molke eine Hauptrolle zuzuschreiben. Bei den unteren Temperaturen bleibt die Kurve der Rohkultur allerdings höher, als diejenige der Reinkultur, was damit seine Erklärung findet, daß dieser Teil der Kurve als Ausdruck der Tätigkeit des wärmeempfindlicheren Bact. Güntheri anzusehen ist, während bei der Reinkulturkurve die starke Abflachung eine Folge der relativ hohen Lage der Temperaturkardinalpunkte des Bac. casei ε ist.

Bac. casei ε hat sich in Reinkulturen sehr dankbar für Sauerstoffausschluß erwiesen; Bact. Güntheri hingegen reagiert nur unbedeutend darauf. Diese Tatsachen geben auch eine plausible Erklärung für den merkwürdigen Einfluß, den die Temperatur auf die Steigerung der Säuerungsintensität der Molke bei Luftausschluß ausübt (p. 9—16). Für die tieferen Temperaturen beherrscht Bact. Güntheri die spontane Gärung; deshalb die geringe Divergenz der Kurven bei Züchtung mit und ohne Luftausschluß. Für die hohen Temperaturen, insbesondere für 40—46 ° C ist Bac. casei ε (allgemein die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien) Herr der Gärung. Daher die lebhaft gesteigerte Säureproduktion infolge Luftausschlusses bei diesen Temperaturen.

Die gleichen Erklärungen gelten für die zeitliche Verfolgung des

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle
Säuerungsintensität von Bacterium Güntheri von verschiedener

Bacterium Güntheri	Mikroskopisches Bild aus in Milchzuckeragar hohe Schicht bei 30° C gewachsener Kultur	Milch bei 30° C geronnen nach Stunden:	Kulturverhalten in Milchzuckeragar-Stich bei 20° C gewachsen nach 24 Stunden
a	Meist zu zweien stehende, an den Enden deutlich zugespitzte, 2—8-gliedr. Ketten bildende Stäbchen 0,8—0,9 μ breit, 0,8—1,2 μ lang, unbeweglich	20	Gleichmäßiges Wachstum längs des ganzen Stiches; oberes Drittel Säurehof; keine Auflagerung
b	Kurze, meist zu zweien stehende, zugespitzte, unbewegliche Stäbchen, 1,0 bis 1,2 μ lang, 0,8—0,9 μ breit	20	Perlschnurartiges Wachstum längs des ganzen Stiches, keine Auflagerung
c	Kurze, meist deutlich zugespitzte, unbewegliche, meist zu zweien stehende Stäbchen, 0,9—1,1 μ lang, 0,7—0,8 μ breit	18	Gleichmäß. perlschnurart. Wachstum längs des ganzen Stiches, keine Auflagerung. Säurehof.
d	Kurze, meist zu Ketten vereinigte, an den freien Enden zugespitzte, unbewegliche Stäbchen, 0,8—1,0 μ lang, 0,7—0,9 μ breit	18	do.
e	Meist zu zweien stehende, zugespitzte, selten Ketten bildende Stäbchen, 1,0 bis 1,1 μ lang, 0,7—0,8 μ breit	19	Wachstum längs des ganzen Stiches, perlschnurartig, kein Oberflächenwachstum. Säurehof
f	Ovale, deutlich zugespitzte, meist zu zweien stehende Stäbchen; unbeweglich, 0,8—1,1 μ lang, 0,7—0,8 μ breit, häufig Ketten bildend	15½	Gleichmäßiges Wachstum längs des ganzen Stiches, keine Auflagerung. Säurehof in der oberen Hälfte
g	Ovale, deutlich zugespitzte, meist längere Ketten bildende, unbewegliche Stäbchen, 0,8—1,3 μ lang, 0,9 μ breit	15½	Kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches; Knötchenbildung, obere Hälfte Säurehof; keine Auflagerung
h	Meist in Zweiergruppen liegende, deutlich zugespitzte, unbewegliche Stäbchen; selten in längeren Ketten, 0,7 bis 1,1 μ lang, 0,8 μ breit	15	Kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches; oberes Drittel Säurehof; keine Auflagerung
i	Zweiergruppen an den freien Enden deutlich zugespitzter, unbeweglicher Stäbchen, meist in längeren Ketten, 0,6—0,9 μ breit, 0,6—1,1 μ lang	15½	Wachstum längs des ganzen Stiches, keine Auflagerung
k	Meist zu Ketten verbundene an den freien Enden zugespitzte, selten zu zweien stehende, unbewegliche Stäbchen, 0,9 bis 1,1 μ lang, 0,8—0,9 μ breit	15	Kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches, keine Auflagerung; kräftiger Säurehof
l	Meist zu zweien verbundene, zugespitzte, unbewegliche Stäbchen, kräftige Formen, 0,8—0,9 μ breit, 0,8—1,2 μ lang	15½	Kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches, keine Auflagerung; Kondenswasser trüb
m	Meist zu zweien stehende, zugespitzte Stäbchen; unbeweglich, 1,0—1,1 μ lang, 0,7—0,8 μ breit	19	Kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches; perlschnurartig; keine Auflagerung

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XVII.
Herkunft bei verschieden starkem Luftzutritt resp. -ausschluß.

Kulturverhalten in Molkengelatinestich bei 20° C in 24 Stunden	Säuregrad nach 17 Stunden bei 30° C. in 1-proz. Peptonschotte			Säuregrad nach 48 Stunden in 1-proz. Peptonschotte			
	In flacher Schicht	In flacher Schicht	In hoher Schicht	In flacher Schicht	In flacher Schicht	In hoher Schicht	In h. Schicht m. Anaërob.-Verschluß
Wachst. längs des ganzen Stiches; Knötchenbild., keine Auflagerg.	17,6	18,0	18,4	—	—	—	—
do.	17,4	17,6	16,8	—	—	—	—
do.	—	—	—	21,0	21,2	23,4	23,4
do.	—	—	—	21,2	21,2	23,2	23,4
do.	—	—	—	20,0	20,0	22,0	22,0
do.	12,8	12,4	13,8	20,0	20,0	20,0	20,4
do.	7,6	6,8	7,6	20,4	20,0	20,4	20,4
do.	10,8	13,4	16,0	19,2	19,6	20,8	20,4
do.	17,2	16,8	17,2	20,4	20,4	20,4	20,4
do.	6,8	6,8	7,6	9,2	8,4	20,4	20,4
do.	16,4	17,2	19,6	20,8	20,8	20,8	20,8
do.	—	—	—	20,0	—	20,4	—

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XVIII.

Zusammenstellung über die Säuerungsintensität von Bacillus casei ε von Freudenreich in flacher und hoher Schicht, sowie bei künstlich geschaffener Anaërobiose.

Bacillus casei ε	Mikroskopisches Bild aus Michzuckeragartiefenkolonie bei 40° C gewachsener Kultur	Milchkultur geronnen bei 30° C in Tagen	Milchkultur geronnen bei 42° C in Std.	Kulturverhalten in 1-proz. Peptonschotte bei 42° C	Kulturverhalten in Milchzuckeragarschüttelkultur bei 42° C	Säuregrad nach 48 Stunden in 1-proz. Peptonschotte bei 42° C: In flacher Schicht	In hoher Schicht	In hoher Schicht mit Anaërobenverschluß
A	Unbewegliche, meist gestreckte, zu längeren Verbänden vereinigte Stäbchen. 0,7—0,9 μ breit, 3—15,0 μ lang	2½	14	Nach 8 Stunden seidenglänzende, wolkige Trübung; nach 14—20 Stunden Beginn der Sedimentierung; nach 48 Stunden noch nicht geklärt	Nach 48 Std. kräftige, meist linsenförmige, mit kräftigem Säurehof umgebene Kolonieen. Oberflächliche Kolonieen kleiner, keine Gasbildung und keine Auflagerung	10,8 10,6	38,4 40,4	38,2 40,0
B	Wie A. 0,7—0,8 μ breit, 3 bis 12 μ lang	2	14	Wie A	Wie A	9,4 10,8	41,2 32,0	36,4 32,0
C	Unbewegliche, meist stark verkrümmte, kettenbildende Stäbchen. 0,8—0,9 μ breit, 2—14 μ lang	3	16	Wie A. Nach 48 Std. Kultur über starkem Sediment geklärt	Wie A	31,4 30,4	41,8 41,4	38,4
D	Wie C. 0,8 μ breit, 2—7 μ lang	2½	18	Wie A	Wie A	12,4 15,2	41,6 32,2	36,2
E	Wie A, meist in Ketten zu 4 Gliedern, Kolonie fadenziehend. 0,9 μ breit, 3—15 μ lang	4½	16	Wie A. Klärung beginnt schon bei 24 Std., grobflockiges, kräftiges Sediment	Wie A	6,0	28,8	—
F	Wie A. 0,9—1,0 μ breit, 3 bis 15 μ lang	2	12	Wie A. Besonders kräftiger Säurebildner	Wie A	12,0	48,0	—
G	Wie A. 0,8—0,9 μ breit, 2½ bis 10 μ lang	3	14	Wie A. Kultur mit Anaërobenverschluß deutlich fadenziehend; die Kulturen mit Luftzutritt nicht	Wie A. Kolonieen etwas fadenziehend	22,8	52,4 52,8	47,0† 46,8†
H	Wie A, 0,8—0,9 μ breit, 3 bis 12 μ lang	2½	12	Wie A. Kräftiger Säurebildner	Wie A	24,8	51,6 51,6	48,8 47,0
I	Wie A. 0,7—0,9 μ breit, 2½ bis 15,0 μ lang	3	14	Wie G	Wie A. Kolonieen etwas fadenziehend	13,0	51,2 50,8	49,2† 48,6†

† kräftig fadenziehend.

Generated on 2019-09-21 17:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Gärverlaufs der Rohkulturen bei verschiedenen Temperaturen (Tabelle IV und V). Das Ergebnis für die Molke A bei 36° C (Tabelle V) läßt im übrigen den Schluß zu, daß die Bakterienflora dieser Molke sich nach und nach bezw. nach 42 Stunden zu Gunsten einer Alleinherrschaft des Bac. casei ε (und verwandte Typen) verändert hat; daher das Auseinanderweichen der bis 24 Stunden fast sich deckenden Kurven.

Aus den Versuchen mit Reinkulturen ging hervor, daß durch rechtzeitige Vornahme eines Lüftungswechsels die Milchsäuregärung unter sonst gleichen Verhältnissen gefördert werden kann. In dieser Tatsache liegt die gewünschte Erklärung für das auffallende Verhalten der Molken in Versuch No. 15.

Auch eine Reihe anderer in der Praxis der Gärungsindustrie gemachten Erfahrungen dürfte durch unsere an Reinkulturen der zwei Haupttypen von echten Milchsäurebakterien vorgenommenen Untersuchungen in ein besseres Licht gerückt werden.

Schlußsätze.

Unter Hinweis auf die am Ende der einzelnen Abschnitte gezogenen Resumés, welche die Gesamtergebnisse vorliegender Arbeit in sich schließen, seien hier nur die wichtigsten Punkte zusammenhängend in Form von Schlußsätzen nochmals hervorgehoben.

1) Der Einfluß des Sauerstoffes auf die Milchsäuregärung äußert sich in verschiedener Weise, je nach der Art der hierbei beteiligten Bakterien.

2) Der Typus der kurzstäbchenförmigen Milchsäurebakterien, in unseren Versuchen repräsentiert durch Bacterium Güntheri Lehm. und Neum., ist gekennzeichnet durch eine sehr geringe Empfindlichkeit gegenüber freiem Sauerstoff. Diese Tatsache äußert sich z. B. darin, daß der in flacher Kulturschicht erreichte Säuregrad gegenüber demjenigen in hoher Schicht nur wenig nachsteht.

3) Der Typus der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien, in unseren Versuchen repräsentiert durch Bacillus casei ε von Freudenreich, ist gekennzeichnet durch eine stark ausgeprägte Empfindlichkeit gegenüber freiem Sauerstoff. Dieser Umstand bedingt es, daß der genannte Typus in erster Linie berufen ist, Versuchsmaterial zur Klärung der Frage nach der Rolle des Sauerstoffes bei der Milchsäuregärung zu liefern.

4) Die Wirkung des freien Sauerstoffes auf Reinkulturen des Bacillus casei ε in einer für Milchsäuregärung geeigneten Nährlösung macht sich in auffallend verschiedener Weise geltend, je nach der Menge des in die Kultur eindringenden Gases. Reichlicher Sauerstoffzutritt z. B. bei Kultur in flacher Flüssigkeitsschicht, läßt überhaupt keine nennenswerte Gärung aufkommen, obwohl unter diesen Verhältnissen eine beträchtliche, wenn auch anscheinend krankhafte vegetative Entwickelung des Spaltpilzes vor sich geht. Spärlicher Sauerstoffzutritt, wie er z. B. in 10 cm hoher Flüssigkeitsschicht sich geltend machen kann, ist sozusagen einflußlos, indem der hierbei erreichte Säuregrad mit jenem identisch ist,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der sich unter übrigens gleichen Verhältnissen bei künstlich geschaffener Anaërobiose ergibt. Ein Maximum der Säureproduktion und Auftreten der schönsten und typischsten Zellformen und -verbände werden aber erreicht, wenn der Sauerstoffzutritt in einem Grade stattfinden kann, der eine gewisse Mittelstellung zwischen den beiden vorigen Fällen einnimmt, d. h. in unseren Versuchen bei einer Schichthöhe der Kulturflüssigkeit (1 Proz. Peptonschotte) von ca. 40 mm.

5) Der erwähnte schädigende Einfluß reichlicher Sauerstoffmengen läßt sich, wie dies bei den obligat Anaëroben schon durch Pasteur geschehen ist, zwanglos als Giftwirkung auffassen, während die erhöhte Tätigkeit der Kultur unter dem Einflusse eines in bestimmtem Maße beschränkten Sauerstoffzutrittes ebenso zwanglos als Reizwirkung durch kleine und gerade wegen ihrer Kleinheit unschädliche Giftmengen gedeutet werden kann.

6) Gegen die Deutung der letztgenannten Erscheinung als Mikroaërophylie im Sinne Beijerincks spricht der Umstand, daß Bacillus casei ε bei strengster Anaërobiose denselben Säuregrad erreicht, wie in hoher Schicht unter Luftzutritt, und sogar bei successiver Weiterimpfung unter dauernd anaëroben Verhältnissen in der 6. Generation keine Abschwächung erkennen läßt. Dieselbe Unabhängigkeit gegenüber dauerndem Luftausschluß läßt sich auch für Bact. Güntheri beweisen.

7) Der in einer Kultur des Bac. casei ε unter ganz bestimmten Verhältnissen inbetreff des Sauerstoffzutritts erreichbare Säuregrad ist im übrigen abhängig von der Temperatur und vom Gehalt des Nährbodens an assimilierbaren Stickstoffverbindungen. Je höher der Gehalt an letzteren und je günstiger die Züchtungstemperatur, um so besser wird der genannte Organismus dem schädigenden Einfluß des Sauerstoffes widerstehen.

8) Zur Erreichung der höchsten Säuregrade in den Kulturen von Bacillus casei ε ist die dauernde Einwirkung eines in bestimmter Weise beschränkten Sauerstoffzutritts nicht notwendig. Der gärungsfördernde Effekt kann auch erzielt werden durch zeitweises Lüften der Kultur mit Hilfe des Schüttelns oder durch abwechselndes Aufstellen ein und derselben Kultur in flacher und hoher Schicht. Auf beiden Wegen werden Säuremengen produziert, welche den bei dauernder Anaërobiose erzielten beträchtlich überlegen sind. Wesentliche Bedingung für das Gelingen dieser Versuche ist, daß die Lüftung nicht zu lange andauert bezw. zu kräftig wirkt, da sonst die Kultur sich von der erlittenen Schädigung auch bei nachfolgenden anaëroben Verhältnissen nicht mehr erholen kann.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anhang.

Die Versuchsorganismen.

I. Bacterium Güntheri (Bact. lactis acidi Leichmann).

Herkunft aus bei 30° C 10 Stunden gestandener Marktmilch.

Mikroskopisches Bild und allgemeine Eigenschaften. Meist zu zweien stehende, an den freien Enden deutlich zugespitzte, mit den gewöhnlichen Anilinfarben leicht färbbare, unbewegliche Stäbchen. Selten 2—12-gliedrige Ketten bildend. Stäbchen 0,8—0,9 μ breit, 0,9 bis 1,1 μ lang.

Kulturelles Verhalten.

1) Milchzuckeragar hohe Schicht bei 30° C. Nach 48 Stunden stecknadelkopfgroße, meist linsenförmige Kolonieen bis zur Oberfläche des Nährbodens; die Tiefenkolonieen meist mit kräftigem Säurehof.

2) Milchzuckeragarplatten bei 30° C. Nach 48 Stunden kaum sichtbare Kolonieen; Tiefenkolonieen linsenförmig und später mit kräftigem Säurehof.

3) Molkengelatineplatten bei 20° C. Nach 48 Stunden feine punktförmige, scharf umrandete Kolonieen mit körnigem Gefüge. Farbe im durchfallenden Licht gelbbraun.

4) Milchzuckeragarstich bei 30° C. Nach 48 Stunden kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches, letzterer perlschnurartig; keine Auflagerung der Oberfläche des Nährbodens; im oberen Drittel kräftiger Säurehof.

5) Molkengelatinestich bei 20° C. Nach 48 Stunden kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches; seitlich Knöllchenbildung; keine Auflagerung an der Oberfläche des Nährbodens.

6) Milchzuckeragarstich bei 30° C. Nach 48 Stunden Wachstum längs des Striches; dieser zusammengesetzt aus lauter einzelnen Kolonieen, letztere sehr klein und kreisrund; Kondenswasser kräftig getrübt.

7) Molkengelatinestrich bei 20°. Strich nach 48 Stunden bestehend aus zahlreichen Einzelkolonieen; diese sind grau und glattrandig.

8) Kartoffel bei 30° C. Nach 10 Tagen kein sichtbares Wachstum.

9) Nährbouillon bei 30° C. Nach 48 Stunden schwache Trübung mit etwas schleimigem Bodensatz.

10) 1-proz. Peptonschotte bei 30° C. Nach 4—6 Stunden Beginn einer schwachen Trübung, die schnell zunimmt; nach 12—24 Stunden Beginn der Sedimentierung; nach 36 Stunden Beginn der Klärung (starker, voluminöser Bodensatz).

Maximum der Säuremenge schon nach 20—30 Stunden.

11) Milch. 20° C nach 64 Stunden gleichmäßig geronnen, Ringbildung unter dem Rahm; 30° C nach 12—20 Stunden gleichmäßig geronnen; 40° C nach 5 Tagen keine Gerinnung.

Von den zu unseren Versuchen verwendeten Organismen dieser Art weicht im physiologischen Verhalten Bact. Güntheri e nur insofern ab, als es eine größere Empfindlichkeit gegenüber dem Luftsauerstoff zeigt (Versuche No. 28, 29 und 34). Im übrigen können wir in Anbetracht der guten Uebereinstimmung der Beschreibungen unter sich und mit der von Lehmann und Neumann gegebenen den Nachweis der Identität unseres Organismus mit dem Bacterium Güntheri für geleistet erachten.

Besondere Beachtung verdient noch der Umstand, daß der in 1-proz.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Peptonschotte gebildete Säuregrad für alle 12 isolierten Güntheri-Stämme ein sehr gleichmäßiger war, indem er nur zwischen 20 und 23 schwankte.

II. Bacillus casei ε.

Herkunft. Aus 24 Stunden altem „Naturlab" verschiedener Käsereien.

Mikroskopisches Bild. (Aus Milchzuckeragartiefenkolonieen.) Unbewegliche, häufig stark verkrümmte Stäbchen, zuweilen kurzgliedrige Ketten bildend. Selten kurze, einzeln stehende Zellen. 2,5—17 μ lang, im Mittel 3—6 μ lang. 0,6—0,9 μ breit. Kettenglieder sehr ungleich lang. Stäbchen an den freien Enden wenig abgerundet. Färbt sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben. Temperaturoptimum in 1-proz. Peptonschotte 40—42° C.

Kulturelles Verhalten.

1) Milchzuckeragarschüttelkultur bei 42° C. Nach 28 Stunden Verdünnung b mehrere feinste Kolonieen. Nach 48 Stunden Kolonieen von ca. 0,5 mm im Durchmesser; meist linsenförmig; in den unteren zwei Dritteln des Nährbodencylinders größer und mit deutlichem Säurehof versehen; keine Gasbildung.

2) Milchzuckeragarplatten bei 42° C. Nach 48 Stunden Verdünnung b kräftig besät mit feinsten Kolonieen; meist Tiefenkolonieen, die 0,5 mm Durchmesser nicht überschreiten; kompakte Massen mit fein gezeichnetem, wattebauschähnlichem Rand; Oberflächenkolonieen; feinste Auflagerung mit gekröseartiger Zeichnung.

Mikroskopisches Bild. Meist wurmartig verkrümmte, längere Faden bildende, in körnigem Zerfall begriffene Stäbchen.

3) Molkengelatineplatten bei 20° C. Nach 6 Tagen kein Wachstum.

4) Milchzuckeragarstich bei 42° C. Nach 24 Stunden kräftiges Wachstum längs des ganzen Stiches, mit seitlicher Knötchenbildung; später zeigt der Stich in seiner Umgebung neblige Trübung (Säurehof); keine Auflagerung auf der Oberfläche des Nährbodens.

5) Molkengelatinestich bei 20° C. Nach 6 Tagen kein sichtbares Wachstum.

6) Milchzuckeragarstrich bei 40° C. Nach 3 Tagen perlschnurartiges, spärliches Wachstum; Kondenswasser getrübt, mit voluminösem Niederschlag.

Mikroskopisches Bild. Meist stark verkrümmte Stäbchen; häufig spiralig gewunden; letztere von körnigen Massen umgeben; Protoplasma sehr ungleichmäßig verteilt (durch verschiedene Lichtbrechung sich differenzierende Partieen).

7) Molkengelatinestrich bei 20° C. Nach 6 Tagen kein Wachstum.

8) Kartoffel bei 37° C. Nach 6 Tagen kein sichtbares Wachstum.

9) Nährbouillon bei 40° C. Nach 6 Tagen vollkommen klar.

10) 1-proz. Peptonschotte bei 42° C. Nach 6 Stunden seidenwolkige Trübung. Nach 12 Stunden Beginn der Sedimentierung. Nach 48 Stunden Beginn der Klärung über einem kräftigen, massigen Bodensatz. Nach 48 Stunden Säuregrad 20—74,0. Nach 6 Tagen Säuregrad bis 99,4.

11) Milch. 40° C nach 14—30 Stunden gleichmäßig geronnen, mit schwacher Andeutung eines Ringes unter dem Rahm; Gerinnung beginnt immer am Boden und schreitet nach oben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

40° C nach 10 Tagen Säuregrad 130,0 ccm $\frac{n}{4}$ KOH auf 100 Milch.
30° C „ 10 „ „ 104,0 „ „ „ „ 100 „
20° C „ 10 „ „ 0,3 „ „ „ „ 100 „

Die Beschreibungen der verschiedenen Stämme des Bac. casei ε entsprechen bis auf kleine Details, die als unwesentliche aufgefaßt werden müssen, der oben gegebenen voll und ganz, weshalb wir auf eine ausführliche Wiedergabe jener verzichten dürfen. Abweichungen betreffs Gärenergie ergeben sich aus den einzelnen Versuchen selbst. Solche finden wir für Kulturen ein und desselben Stammes, wie auch bei Vergleichung der verschiedenen Stämme; im allgemeinen aber bleibt die einmal konstatierte Gärenergie erhalten, bis sie mehr oder weniger plötzlich so stark zurückgeht, daß eine erneuerte Isolierung eines frischen Stammes unumgänglich ist. Wie schon oben angedeutet, degeneriert Bacillus casei ε sehr leicht, und zwar sind diesbezügliche Störungen in vielen Fällen anscheinend ohne nachweisbaren Grund aufgetreten, d. h. unter Bedingungen betreffs der Zusammensetzung des Nährbodens, Zahl der vorausgegangenen Ueberimpfungen etc., mit welchen sonst Wachstum und Gärtätigkeit nichts zu wünschen übrig gelassen hatte. Mitunter schien es, als ob zu gewisser Zeit, z. B. bei gewitterhaftem, heißem Wetter, die Degeneration der Säurelangstäbchen besonders gerne auftrete; doch möchten wir diese Ansicht nur mit allem Vorbehalt äußern.

III. Mycoderma Rütti.

Die Eigenschaften des von uns benutzten Organismus stimmen mit den von Thöni (16) angegebenen gut überein; es dürfte sich also um ein und dieselbe Art handeln, um so mehr, als der Ursprung beider der gleiche ist (Naturlab einer Emmentalerkäserei).

Literatur.

1) Mayer, A., Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXV—XXVII. 1891; zit. nach Ref. Kochs Jahresber. 1891. p. 173.
2) Richet, Comptes rendues de l'académie. T. CXIV. 1892. p. 1494.
3) Höft, H., Michztg. 1897. p. 14 u. 24.
4) Neumann, O., Wochenschr. f. Brauerei. 1900. p. 608.
5) Kayser, M. E., Annales de l'Institut Pasteur. 1894. p. 737.
6) Barthel, Chr., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900. p. 417.
7) Henneberg, Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXII—XXXI. Separatabdr. p. 22.
8) Beijerinck, M., Archives néerlandaises des sciences exactes et naturelles. Série II. T. VI. p. 212.
9) Marshall, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1904. p. 491.
10) Troili Peterson, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXII. 1899. p. 361.
11) Emmerling, O., Die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien. p. 35. Braunschweig (Vieweg u. Sohn) 1902.
12) Koestler, G., Milchwirtsch. Centralbl. 1906. p. 193.
13) v. Freudenreich, Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1891. p. 16.
14) — und Thöni, ebenda. 1904. p. 529.
15) Jensen, O., ebenda. 1906. p. 302.
16) Thöni, J., ebenda. p. 237.
17) Jensen, O., ebenda. 1903. p. 234.
18) Burri, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902. p. 533.
19) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 2. Aufl. Teil II. p. 209.
20) Wright, J., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1901. p. 534.
21) Kürsteiner, J., Mündliche Mitteilung.
22) Marshall, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1904. p. 739.
23) Jensen, O., ebenda. 1898. p. 196.
24) Beijerinck, M., Archives néerlandaises des sciences exactes et naturelles. Serie II. T. II. 1899. p. 397.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Charakteristik einer neuen, aus sterilisierter Dosenmilch isolierten Bakterie „Plectridium novum".

[Arbeit aus der bakteriologischen Abteilung der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. H. Weigmann.]

Von Dr. **Harald Huss.**

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

1. Natürliche Größe.

a) Oberflächenkolonieen: Nach 24 Stunden etwa 1 mm im Durchmesser fassende, kreisrunde, flache, saftig glänzende, auf schwarzer Unterlage grauweiße, bei dunkelfallendem Licht fast milchweiße, glattrandige Belage. Am 3. Tage haben die Kolonieen eine Größe von 2 mm erreicht, besitzen sonst ungefähr dasselbe Aussehen wie 24 Stunden alte Kolonieen. Bei durchfallendem Lichte erscheinen die Belage für das unbewaffnete Auge wie folgt: Der größte Teil derselben, mit anderen Worten, die zentrale Partie, ist gelblich-grau, undurchsichtig, der Rand bläulich-grau, durchscheinend, zerrissen und mit feinen Lappen versehen.

Sechs Tage alte Kolonieen messen im Diameter etwa 2,5 mm. In Petrischalen, à 10 cm, die mit etwa 10 ccm Agar beschickt werden, erreichen die Oberflächenkolonieen niemals eine von diesem Maß beträchtlich abweichende Größe, vorausgesetzt, daß die Belage nur in geringer Zahl auf der Platte vorhanden sind. Die 6-tägigen, saftig glänzenden Kolonieen zeigen einen stark zerrissenen und gelappten Rand, welcher durchsichtig und von blaugrauer Farbe ist.

Den Plattenkulturen fehlt, wie auch allen anderen Kulturen des Plectridium novum in sowohl jüngeren wie älteren Stadien jedes Aroma.

In 12-tägigen Platten ist das Agar eingetrocknet. Die Oberflächenkolonieen sind hier grau, matt; das Zentrum derselben, das weißlich erscheint, ist von einer grauen Partie umgeben, diese wieder von einem weißlichen Kreis. Der gelappte Rand hat graue Farbe. Zu dieser Zeit besteht die Kultur fast nur aus Sporen.

b) Tiefenkolonieen: Nach 24 Stunden teils weiße, kugelige oder wetzsteinförmige Pünktchen oder auch horizontal ausgebreitete, rundliche graue Scheiben, die ein weißes Zentrum besitzen. Am 6. Tage haben diese letzteren etwa dasselbe Aussehen und dieselbe Größe wie die gleichaltrigen Oberflächenkolonieen, nur sind sie etwas durchsichtiger als diese.

2. Bei 90-facher Vergrößerung.

a) Oberflächenkolonieen: Die 24 Stunden alten Kolonieen sind fast kreisrund, am Rande wellig oder mit kleinen Ausbuchtungen versehen, hier und da fein gezähnt. Der größte Teil derselben besitzt bräunliche, gegen den Rand zu gelbliche Farbe. Gewöhnlich ist das Zentrum wie auch die Peripherie der Belage hell, durchsichtig. Die innere Zeichnung ist feiner oder gröber punktiert. Am 3. Tage erscheint die zentrale Partie fast rostbraun und dunkel punktiert. Der auf diesem Stadium auch bräunliche, von dem zentralen Teile der Kolonie durch

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine hellere Zone getrennte Rand ist stark gezackt und gelappt; von demselben gehen kürzere und längere, sich oft miteinander vereinigende farblose Ausläufer aus. Mit zunehmendem Alter wird die konzentrische Zeichnung der Belage deutlicher, es wechseln dunkelbraune mit hellgelben Zonen ab. Auf 12-tägigen Platten besitzen die Kolonieen ungefähr dieselben Charaktere wie in 6-tägigen Kulturen. Dieselben haben eine mehr oder weniger deutliche, lockige Zeichnung.

b) Tiefenkolonieen: Nach 24 Stunden erscheinen die kugeligen oder wetzsteinförmigen Kolonieen bräunlich, sie sind fein punktiert und glattrandig. Die horizontal ausgebreiteten, rundlichen, schwach gelblichen Tiefenkolonieen ähneln den gleichaltrigen Oberflächenkolonieen, nur ist der Rand mehr lappig als bei diesen.

In späteren Entwickelungsstadien bekommen die kugeligen und wetzsteinförmigen Kolonieen rostbraune Färbung und, wie auch die scheibenförmigen, konzentrische Zeichnung. Bei einem Alter von etwa einer Woche sind die scheibenförmigen Tiefenkolonieen den Oberflächenkolonieen ganz gleich, auch in Bezug auf das Aussehen der Randpartie. Die Farbe ist aber eine bedeutend schwächere, mehr gelbliche.

Agartupfkolonie. Temp. 37° C.

Eine mit einer Spur Agarstrichkultur betupfte Agarschicht wird recht bald von einem schleierartig dünnen, grauen, in ihren äußeren Umrissen unregelmäßigen, mehr oder weniger gelappten Belag überzogen, dessen Rand zuerst nur kleinere Ausbuchtungen aufweist. Mit zunehmendem Alter werden diese Ausbuchtungen größer, bekommen eine feine Zähnelung und teilen sich schließlich in immer feinere und zierlichere Ausläufer und Verzweigungen auf. Die Phot. 5 stellt einen Teil einer 7 Tage alten Tupfkolonie in natürlicher Größe dar, deren Randpartie schon den Anfang der Bildung von Verästelungen zeigt. In 14-tägigen Tupfkulturen besitzt der Rand ein reizendes, moosähnliches Aussehen. Bei 130-facher Vergrößerung gleicht derselbe demjenigen einer Kolonie von Bacillus Zopfii, wenn auch die Ausläufer sich nicht so weit von der Peripherie des Belages entfernen, wie dies der Fall bei Bacillus Zopfii ist. Die innere Zeichnung einer Agartupfkolonie ist besonders in den ersten Tagen und speziell am Rande geflammt (Phot. 6).

Agarstich. Temp. 37° C.

Ein verhältnismäßig kräftiges Wachstum entwickelt sich im ganzen Stichkanal. Auf der Oberfläche der Agarsäule entsteht allmählich ein dünner, grauer Belag, welcher einer Oberflächenkolonie der Agarplatte ähnlich ist. Mit zunehmendem Alter schießen kürzere und längere, senkrecht zum Stichkanal verlaufende, mehr oder weniger gerade, etwas filzig aussehende Aestchen vom Stich heraus. Die Stichkultur bekommt hierdurch ein Aussehen, das an einen verkehrten Tannenbaum erinnert.

Agarstrich.

1) Temp. 20° C:

Ein nach 24 Stunden schleierartig dünner, recht breiter Belag, welcher am 3. Tage blaugraue Farbe besitzt und fettglänzend ist. Die Oberfläche des Striches ist leicht gekörnelt. Später erscheint der Belag weißlichgrau und am Rande stark gelappt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Temp. 37° C:

Nach 24 Stunden kräftiger, grauweißer, saftig glänzender Strich mit zerrissener Randpartie. Die Konsistenz der Kultur ist etwas schleimig (vergl. Bouillonkulturen!); die Bakterienmasse läßt sich in kurzen Fäden ausziehen. Nach einigen Tagen hat der Belag das Aussehen ein wenig verändert. Der mittlere Teil desselben ist nunmehr weißlich, die Randpartie dagegen fast farblos, sehr dünn, durchsichtig und mit kleineren und größeren Ausbuchtungen und Ausläufern versehen.

1-proz. Dextrose-Agarschüttelkultur Temp. 37° C.

Keine Gasbildung. Mit Kongorot gefärbtes Substrat wird durch die gebildete Säure in 24 Stunden entfärbt.

Molkenagarstrich. Temp. 37° C.

Eine von gewöhnlichem, alkalisch reagierendem Agar auf Molkenagar versetzte Kultur entwickelt sich auf dem neuen Substrat äußerst kümmerlich. Es entsteht nach 24 Stunden ein dünner, fast unsichtbarer, matter Belagstreifen, der in den folgenden 14 Tagen keine makroskopisch wahrnehmbare Veränderung erfährt.

Wenn ein Molkenagarröhrchen (schräge Fläche) mit einer Oese von in sterilem Wasser aufgeschwemmtem, abgekochtem Sporenmaterial geimpft und bei 37° C gehalten wird, ist das Substrat nach 20 Stunden von einem dünnen, fast farblosen Belag überzogen (das Keimungsvermögen der Sporen ist also auf sauren Nährböden ein gutes), welcher sich bei mikroskopischer Untersuchung aus normal gebauten Stäbchen zu bestehen erweist. Erst das längere Verweilen der Kultur auf dem sauren Substrat bringt Veränderungen in dem morphologischen Charakter der Individuen mit sich. So besteht z. B. eine 15-tägige Molkenagarkultur, die, nebenbei bemerkt, keine sporulierenden Stäbchen, noch weniger Sporen enthält, aus zu einem großen Teil verhältnismäßig sehr breiten, etwa 1,05 μ im Diameter fassenden Zellen, die sehr häufig in verschiedener Art gekrümmt, mitunter hufeisenförmig sind. Mehrere Individuen fallen durch ihren ungleichmäßigen Durchmesser ihres Zellenleibes auf. Im allgemeinen lassen sich die Individuen einer alten Molkenagarkultur schlecht färben.

10-proz. Dextrose-Agarstrich. Temp. 37° C.

Als Impfmaterial dienten abgekochte Sporen. Ergebnis der mikroskopischen Analyse der Kultur:

Nach 20 Stunden: Ausschließlich Oidien, die relativ kurz sind und schön abgerundete Enden besitzen. Keine längeren, unsegmentierten Fäden beobachtet.

Nach 3 Tagen: Die Kultur enthält nur Oidien, welche bald als Einzelindividuen, bald als Glieder 2—3-zelliger Verbände auftreten. Das Längenmaß der Oidien jetzt etwas größer. Es kommen auch vereinzelte längere, unsegmentierte Fäden vor, die eine Länge von bis zu 40 μ erreichen. Die mehrzelligen Verbände sind in Kleinzahl vorhanden.

Nach 8 Tagen: Die Zusammensetzung der Kultur ist dieselbe wie in einem 3 Tage alten Dextroseagarstrich. Sporulierende Individuen sind nicht vorhanden.

10-proz. Saccharose-Agarstrich. Temp. 37° C.

Impfmaterial: abgekochte Sporen.

Die mikroskopische Untersuchung der Kulturen ergab folgendes:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach 20 Stunden: Nur sterile Stäbchen. Die kurzen Individuen (1,90—2,45 μ lang!) sind vorherrschend.

Nach 40 Stunden: Meistens kurze Zellen, die sehr häufig bis zu 10-zellige Verbände bilden. Sporulierende Zellen nicht vorhanden.

Nach 3 Tagen: Längere Oidien sind jetzt verhältnismäßig reichlich zugegen. Viele Zellen weisen einen Durchmesser von etwa 1,4 μ auf; man beobachtet aber sogar Oidien, die eine Breite von 1,75 μ bei einer Länge von 2,45 μ besitzen, die also fast kokkenähnlich kurz sind. 2-zellige Verbände ähneln oft durch die geringe Länge ihrer Glieder Diplokokken. Neben diesen Formen, die man entweder als Hypertrophieen oder als Involutionsformen auffassen kann, kommen Individuen vor, deren Körper an irgend einer Stelle blasig aufgetrieben ist.

Nach 8 Tagen: Die Zusammensetzung der Kultur hat keine wesentliche Veränderung erfahren. Sporulierende Individuen sind nicht beobachtet worden.

Das Wachstum der Bakterie auf mit 10 Proz. Dextrose bezw. Saccharose versetztem Agar ähnelt demjenigen von Bacillus esterificans (5). Der Belag ist schleierartig dünn und breitet sich rasch über die ganze Substratfläche aus.

In mikroskopischer Beziehung ist aber der Unterschied zwischen den beiden einander so nahestehenden Mikroorganismen auf diesen zuckerreichen Substraten auffallend groß. Involutionsformen treten bei beiden Bakterien auf, sind aber bei Bacillus esterificans durch ihre Gestalt viel mehr in die Augen springend. Fäden werden auch von beiden gebildet, sind aber bei Plectridium novum mehr eine Seltenheit, während sie von Bacillus esterificans auf denselben Nährböden in großer Fülle erzeugt werden.

Bouillon. Temp. 37° C.

In 2 Tagen tritt in der Bouillon eine ganz leichte Trübung auf, die mit der Bildung eines geringfügigen, etwas schleimigen Bodensatzes von weißlicher Farbe verbunden ist. Eine 12 Tage alte Kultur ist fast klar; am Grunde des Kulturglases hat sich ein kleiner Bodensatz angesammelt, der ziemlich fest am Boden haftet. Die Konsistenz dieses Bodensatzes ist fadenziehend, läßt sich aber beim Schütteln gut, wenn auch langsam, in der Bouillon verteilen. Hautbildung konnte auch in älteren Kulturen nicht beobachtet werden. Die Kultur wird mit zunehmendem Alter ein wenig dickflüssig; sie reagiert alkalisch.

Bei mikroskopischer Untersuchung einer 3-tägigen Bouillonkultur wurden folgende Beobachtungen bezüglich der Morphologie der Bakterie gemacht: Die Zellen sind von wechselnder Länge; unsegmentierte Fäden kommen recht häufig vor, die größte beobachtete Länge eines solchen Fadens betrug 90 μ. Mehrzellige Verbände — aus bis zu 6 Zellen bestehend — sind zahlreich vertreten; die Länge der Einzelindividuen dieser Verbände variiert sehr. Das längste beobachtete Individuum eines Verbandes war 17 μ lang.

In 10-tägigen Bouillonkulturen finden wir recht oft eigentümliche Mißbildungen, die häufig dasselbe Aussehen haben wie die von mir nachgewiesenen teratologischen Formen der anaëroben Agarkulturen von Bacillus esterificans (s. Fig. 14). Das auffallende bei diesen Involutionsformen ist, daß der Zellenleib entweder in der Mitte oder an dem einen Ende oder auch an zwei verschiedenen Stellen starke, blasenförmige Auftreibungen besitzt. Die Individuen einer 10 Tage alten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kultur haben ein auffallend körniges Plasma. Wie aus den mikrochemischen Reaktionen hervorging, besteht ein großer Prozentsatz der „Körnchen“ aus Volutin.

Milch (Reagenzgläschen mit 10 ccm Magermilch).

1) Temp. 20° C:

Erst am 5. Tage ist die Milch zu einem weichen Kuchen ohne Serumabscheidung geronnen Die Reaktion der Kultur ist schwach sauer. In älteren Stadien verhält sich diese bei Zimmertemperatur gezüchtete Kultur wie die folgende.

2) Temp. 37° C:

Nach 24 Stunden weich, nach 48 Stunden fest geronnen, unter Ausscheidung geringer Mengen trüben Serums. Die Reaktion der geronnenen Milch ist stark sauer, der Geschmack derselben schwach säuerlich, nicht unangenehm. Das Kasein sinkt allmählich zusammen und wird nachher anscheinend zu einem kleinen Teil aufgelöst. Eine einen Monat alte Milchkultur, welche fast neutral reagiert, hat auch einen recht bitteren Geschmack.

Kartoffelstrich.

Fast ebenso kümmerlich wie auf Molkenagar ist das Gedeihen von Plectridium novum auf Kartoffeln, gleichgültig, ob die Züchtung bei 20° oder 37° C erfolgt. Es entwickelt sich ein dünner, weißer oder fast kartoffelfarbiger, matt glänzender Belag, welcher sich dem Substrat dicht anschmiegt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung einer 6 Tage alten, bei 37° gewachsenen Kultur wurden hauptsächlich normale Oidien, Sporangien und Sporen beobachtet. Außerdem kamen aber kurze und dabei sehr breite Involutionsformen vor, die einen Durchmesser von etwa 1,8—2 μ hatten. Sie wurden oft als Glieder 2-zelliger Verbände gesehen.

Chemische Leistungen.

Das Plectridium novum produziert geringe Mengen Indol; es besitzt aber keine reduzierenden Eigenschaften, indem es nicht im stande ist, Kaliumnitrat zu Nitrit abzubauen (Nachweis mit Sulfanilsäure + α-Naphtylamin). Methylenblau wird in Bouillonkulturen nicht entfärbt; Schwefelwasserstoffbildung konnte auch nicht nachgewiesen werden.

Hauptcharaktere der beschriebenen Bakterie.

1) Ein bewegliches, peritrich begeißeltes Stäbchen, das Sporen bildet, welche gegen Hitze relativ sehr resistent sind.

2) Die Sporangien besitzen Plectridium-Form.

3) Die Sporen keimen polar.

4) Das Gedeihen der Bakterien ist gleich gut bei anaërober wie bei aërober Züchtung.

5) Die optimale Temperatur für das Wachstum liegt bei 37° C.

6) Die Bakterie vergärt Kohlehydrate zu Säuren; Gase werden dabei nicht erzeugt.

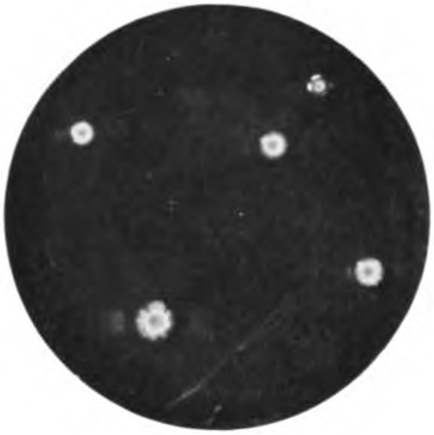
7) Gelatine wird durch die Tätigkeit proteolytischer Enzyme verflüssigt.

In einer früheren, die Morphologie und Biologie von Bacillus esterificans und Pseudomonas Trifolii behandelnden Arbeit (5)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

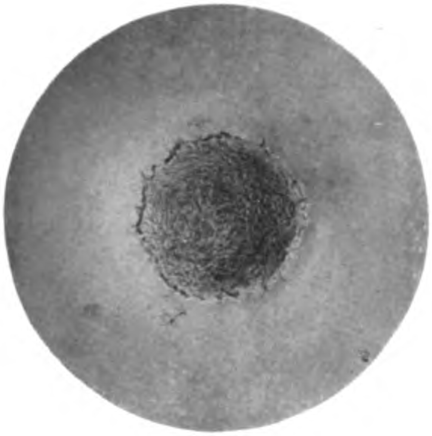
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Harald Huss, *Neue aus sterilisierter Dosenmilch isolierte Bakterie Plectridium novum.*



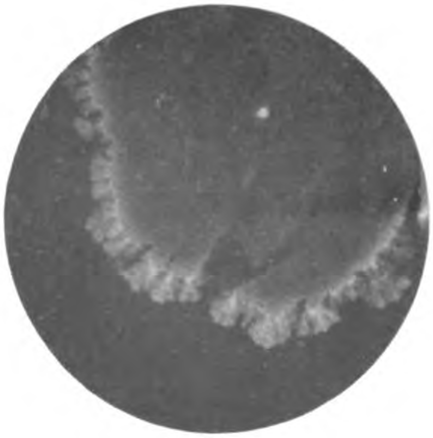
1.

2.

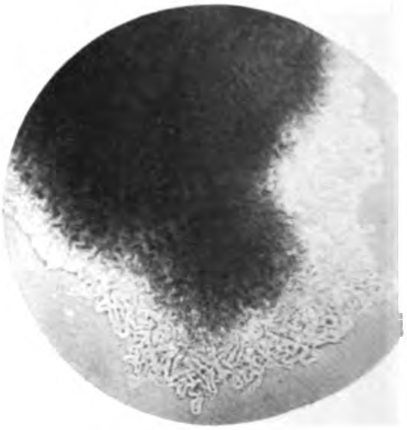


3.

4.



5.



6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

habe ich die Wünschenswürdigkeit eines einheitlichen, natürlichen Systems der Bakterien hervorgehoben und dabei dem von A. Fischer (3) aufgestellten Systeme als dem gegenwärtig schönsten Vorschlag den Vorzug vor anderen Systemen gegeben. Ich habe auch dort im Zusammenhang damit erwähnt, daß der Bacillus esterificans nach der Fischerschen Bezeichnung der Gattungen Plectridium esterificans zu heißen käme. Für eine Käsereifungsbakterie, die Plektridien bildet, hat Weigmann (9) auch die Fischersche Nomenklatur benutzt, indem er derselben den Namen Paraplectrum foetidum (wahrscheinlich wäre die Bezeichnung Plectridium foetidum richtiger, da das Paraplectrum, wie aus der Weigmannschen Arbeit hervorgeht, beweglich ist; Geißeln konnten aber bis jetzt nicht nachgewiesen werden [1])) gab. Diese Benennung hat sich auch, wie aus der Fachliteratur hervorgeht, sehr gut eingebürgert. Da die hier beschriebene Bakterie auch durch keulen- oder kaulquappenähnliche Sporangien und peritriche Begeißelung ausgezeichnet ist, gebührt ihr der Gattungsname Plectridium. Von allen der von mir in der Literatur angetroffenen, morphologisch verwandten Arten war keine in biologischer Beziehung mit dieser identisch. Ich schlage deshalb vor, sie Plectridium novum zu nennen.

Kiel, im April 1907.

Literatur.

1) Blau, O., Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien, auch derjenigen mit hohen Temperaturmaxima. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 97.)
2) Burri, Beseitigung der in der Milch vorhandenen Bakterien durch Erhitzen. (In Lafars Handbuch der technischen Mykologie. Bd. II. Heft 2. p. 279.)
3) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903.
4) Flügge, C., Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 272.)
5) Huss, H., Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907.)
6) Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903.
7) Migula, W., System der Bakterien. Bd. II. 1900.
8) Weber, A., Die Bakterien der sogenannten sterilisierten Milch des Handels, ihre biologischen Eigenschaften und ihre Beziehungen zu den Darmkrankheiten der Säuglinge, mit besonderer Berücksichtigung der giftigen, peptonisierenden Bakterien Flügges. (Arb. aus d. k. Ges.amt. Bd. XVII. 1900.)
9) Weigmann, H., Ueber zwei an der Käsereifung beteiligte Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)

Tafelerklärung.

Phot. 1. Gelatineplatte. Oberflächenkolonieen. 3 Wochen alt. Vergr. 2:1.
Phot. 2. Gelatineplatte. Tiefenkolonie. 10 Tage alt. Vergr. 60:1.
Phot. 3. Gelatineplatte. Eine eben an der Oberfläche des Substrats angelangte Tiefenkolonie einer ziemlich dichtbesäeten Platte. Vergr. 60:1.
Phot. 4. Gelatineplatte. Oberflächenkolonie. 10 Tage alt. Vergr. 60:1.
Phot. 5. Agartupfkolonie. Randpartie. 7 Tage bei 37° C. Vergr. 1:1.
Phot. 6. Agartupfkolonie. Randpartie einer 4 Tage alten, bei 37° C gezüchteten Kultur. Vergr. 50:1.

1) Nach dem Abschluß dieser Arbeit gelang es mir, mit Hilfe der Löfflerschen Methode (6) peritrich angeordnete Geißeln nachzuweisen. Die Bakterie soll also Plectridium foetidum heißen. Stockholm, im Juli 1907.

Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

The nodule organism of the Leguminosae — its isolation, cultivation, identification and commercial application.

By **F. C. Harrison,**
Bacteriological Laboratories, The Macdonald College, Ste. Anne de Bellevue, Q. Canada,
B. Barlow,
Bacteriological Department, Ontario Agricultural College, Guelph, Ont.

With 9 Plates.

(Conclusion.)

Growth in Ash-maltose-water media. In January, 1905 a series of liquid media were inoculated with pure cultures isolated from nodules of red clover, alfalfa, vetch, bean and soy bean. The inoculated media were kept at 25° C and observed daily, and the following conclusions were drawn: Some growth takes place in distilled water with 1% of maltose, but such a medium is not favourable. The liquid becomes turbid, sediment forms which is not ropy but which diffuses on shaking, and a thin, wide ring of growth forms on the glass downwards from the surface. Media made in the manner already described, with distilled water 100 parts; maltose 1 part; and ashes 1/2, 1 and 1 1/2 parts respectively, and varying from neutral to alkaline —3°, are favourable. Growth begins usually in three or four days and increase visibly for 15 days. The liquid becomes turbid and the turbidity continues and increases to a thick, white layer. On shaking with a circular motion, this growth rises in the liquid and twists or coils on itself. It is not easily diffused by shaking and again settles down when left standing. There may be strings of slimy growth suspended on the body of the liquid. A ring of growth appears on the glass in usually nine or ten days just beneath the surface of the liquid and gradually increases to a thick, slimy ring which may break in pieces and fall to the bottom and again form at the surface. A partial film may form.

Media made with distilled water 100 parts; maltose 1 part; and ashes 2 parts and 2 1/2 parts respectively, are less favourable. The body of the liquid remains clear and a slimy white growth takes place at the bottom in 15 days or more.

In larger flask cultures, a ring forms and an especially copious growth spreads over the surface. From the lower side of this mucilaginous film many delicate slimy filaments hang down some of which reach and unite with the copious slimy sediment.

9) Morphology of Ps. radicicola. The cells from colonies are minute or small rods, single or in twos, often swollen at one end or near the middle, often bent, more rarely branched. They are swiftly and actively motile, darting, whirling and tumbling. In young colonies nearly all the cells are motile, in older colonies fewer, and as long as the colony continues to grow some motile cells may usually be seen. The cell contents are not uniform, but denser protoplasm appears in plates and bands, as in the branched cells direct from the nodule. This can be observed in the living cells, but is best seen on staining. In this manner, several surface colonies and as many deep colonies from each plate are isolated and studied and the growth from each colony will be like that from the others on the same media. Colonies developed

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in plate cultures from pure cultures kept in stock as readily as from the nodules and they are the same in appearance.

The morphology of the bacteria taken directly from the nodules varies with the species of legume, the conditions of infection and growth, the age and size of the nodule, and the portion of the nodule examined. These bacterial cells are so characteristic, so varied and so beautiful in form as to be pleasing objects of study. In plants of the tribes Phaseoleae (see photograph 4, Hedysareae and the Genisteae, the bacteria are mostly small rods with comparatively few branching and irregular cells. In plants of the tribes Trifolieae (see photographs 1, 2 and 3), and Vicieae (see photograph 5) branching and irregular forms prevail. The simple rods generally, but not always, prevail in young and in small nodules whereas branched irregular forms are more often observed in older and larger nodules.

The proximal part of the nodule, the part first formed, may contain simple rods mainly, and the distal part, where growth is taking place rapidly, may contain simple rods and many branched and twice branched forms. Where general infection of the leguminous crop occurs, the bacteria may be mostly rods or mostly branched forms the same as in nodules (see flask cultures).

Hanging drop preparations from pure cultures on agar and liquid media have been observed at different stages of growth. From agar cultures the cells are short or longer rods, mostly single but some are joined end to end in twos with rounded ends, often larger at one end, often bent or curved or swollen at the middle. Internally, the protoplasm is seen to be of unequal density and shows bands or plates of denser protoplasm with more transparent portions between. The cells are swiftly and actively motile, darting, whirling and tumbling; they are especially active from young cultures and when the hanging drop is first made. In preparations from older cultures, fewer motile cells are seen but some may be seen in motion as long as the culture shows any increase in growth.

The heavy ring of growth at the surface and also the film consists of small rods bound by the mucilage which they excrete. When a piece of growth is teased in water and examined, some swiftly motile cells are seen and some rotate slowly or rapidly without liberating themselves from the entangled slime.

The turbid liquid from the body of the culture shows some swiftly motile cells and others not in motion, also cells of irregular form, elongated, bent or curved with one and swollen or forking. Twice and thrice branched cells occur (see photograph 8). Extravagant forms with the branches swollen or elongated are not infrequent (see photograph 12).

The slimy sediment consists of cells entangled in a mesh of slime threads. Small rods occur but branched and irregular forms usually prevail.

8) Staining reactions. Flagella stain. Take a loop of the mucilaginous or viscid growth from an agar culture two days to several months old and spread it on a clean slide, lashing it out in slender tongues, let the film dry in air without killing or fixing, flood the film a moment with a saturated alcoholic solution of gentian violet, wash under the tap, dry between folds of filter paper and examine with the oil immersion lens. The mucilage in which the cells lie will be found deeply and evenly stained and the bacteria scarcely stained at all,

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so that the preparation presents the appearance of a photographic negative. The unequal density of the protoplasm of the cells is clearly seen, as indeed it is in the living cells when examined in a hanging drop.

The single polar flagellum is clearly demonstrated by this stain since it, like the protoplasm of the cells, refuses the stain, and so it appears as a clear or uncoloured streak in the surrounding, deeply stained, mucilage. The flagella are best seen at the margins of the film and in thin places (see photographs 9 and 14). In parts of the film where the culture is thickly spread, the mucilage is intensely stained and the flagella being slender and enveloped deeply in the mucilage, are not distinguished. In these parts, however, the cells are beautifully contrasted with the dark background and their internal structure is clearly shown. Saturated alcoholic solutions of methyl blue, night blue or fuchsin may be used in place of saturated alcoholic gentian violet. A film prepared and stained as above, then flooded an instant with Lugol's solution, is still more intensely and darkly stained.

Young agar cultures stain well with carbolic-fuchsin. The mucilage is not deeply stained, but the cells take the stain well and show the irregular density of their protoplasm by its banded appearance. If the film is killed and fixed before staining, the mucilage shrinks away from the cells, leaving a narrow clear space, giving an appearance as if the cells were capsulated.

A stain to demontrate the nature of the Mucilage. Spread a loopful of a mucilaginous culture from agar or from a liquid culture on a slide, dry in the air, flood an instant with water, and immediately flood with some stain as gentian violet or fuchsin. The mucilage of the air-dried film takes up water and when the stain is added the mucilage contracts and assumes certain patterns of figures composed of bands and strands of fine and coarser, intricately interlaced filaments. These are sometimes arranged in wreaths like smoke in form and sometimes in quite regular hexagonal figures (see photographs). The bacterial cells are assembled along the slime threads and correspond in numbers to the thickness of the slime thread on which they lie. They take the stain (see photographs 11 and 13).

Kiskalt's Amyl-Gram stain. This is the same as Gram's stain except that Amyl alcohol is used as a decolorising agent instead of ethyl alcohol. Ps. radicicola is quickly decolored by Gram's method, but stains deep violet by Kiskalt's stain. This stain is applicable to all cultures of Ps. radicicola and is useful in making preparations for photography from liquid media and especially from the nodules, since the amyl alcohol clears up the background, brings the bacteria into prominence, and exhibits their internal structure (see photograph 8).

Saffranin followed by Lugol's solution may be used to stain smear preparations from nodules. This method demonstrates the presence of starch grains.

9) Viability of Pseudomonas radicicola. Some observations on the viability of Ps. radicicola on agar and in liquid media are collected in the following table. The cultures were grown a short time at 20° C or 25° C and were then kept at the temperature of the laboratory. These same cultures were all successfully transferred to various other media more than once in the interval record in the table. and gave a prompt and characteristic growth in favourable media. The

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

transfers recorded in the table were to ash-maltose-agar in all cases and also to ash maltose water in some cases. The growth, morphology and staining reactions were carefully observed and were characteristic of Ps. radicicola as elsewhere described. The same is true of colonies which developed in plate cultures in ash-maltose-agar made from certain of these cultures, after a lapse of nearly a year and eight months in one case. The limit of viability of these culture is not yet known, but this organism will probably live more than two years on favourable agar and in favourable liquid media. The longest time here is two years all but five days.

The growth was abundant and mucilaginous, the cells were actively motile in hanging drops, stained with alcoholic gentian violet they showed single polar flagella. Occasionally branched forms were seen from agar cultures and were frequent in liquid media.

Viability of Pseudomonas radicicola un cultures at room temperature.

Isolated from		Cultivated in water 100 % with				Alive after		
		Ash %	Maltose %	KH_2PO_4 %	Agar %	Years	Mos.	Days
White Clover	R 35	1	2	0	1	1	11	25
(Trifolium repens)	R 36	1	1	0,5	1	1	5	28
Red Clover	R 72 [1]	1	1	0	1,5	0	11	8
Trifolium pratense)	R 36	1	1	0,5	1	1	4	2
Alfalfa	R 34	1	0 [2]	0	1	1	7	2
(Medicago sativa)	R 54	0,5	1	0	0	1	1	17
	R 54	0,5	1	0	0	1	7	4
Vetch	R 44	1	2	0	1	1	10	3
(Vicia villosa)	R 44 [1]	1	2	0	1	1	7	25
	R 54	0,5	1	0	0	1	3	20
Flat pea	R 35	1	2	0	1	1	9	15
(Lathyrus sativus)	R 35	1	2	0	1	1	7	26
Pea	R 36	1	2	0,5	1	1	9	5
(Pisum sativum)	R 45	1	2	0,2	0	0	9	18
	R 60	2	1	0	0	0	9	19
Bean	R 35 [1]	1	2	0	1	1	4	20
(Phaseolus vulgaris)	R 35	1	2	0	1	1	6	26
	R 46	1	1	0	1	0	10	22
Tick trefoil	R 35	1	2	0	1	1	8	29
(Desmodium nudiflorum)	R 45	1	2	0,2	0	1	2	28
Wild bean	R 35	1	1	0	1	1	4	32
(Apios tuberosa)	R 36	1	2	0,5	1	1	8	29

10) Cultures of Leguminoseae in flasks containing ash-maltose agar. Various means were tried in order to kill the bacteria and moulds on leguminous seeds without killing the seeds. The agents employed alone and in combination were dry heat, moist heat sulphuric acid and calcium hydrate, formalin, and mercuric chloride — but only in a few instances were living seeds obtained free from living bacteria, never when the seeds were first inoculated with spores of bac-

1) Plate cultures were made from this culture and sub-cultures from the plate were distributed as nitro-cultures in 1906.

2) Sucrose 2 %.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

teria. The seeds either refused to germinate after treatment or else after germination they proved to be still infected with bacteria. We then gave up trying to kill bacteria when these were already present and found a way to get seeds free from bacteria.

The pods were picked from the plants and such were selected as were sound, well filled and mature but not yet dry. The pods were washed and immersed in mercuric chloride solution, 1 : 1000, for an hour or more, then placed between folds of sterile cotton. A pod was held in forceps and passed through the flame on all sides and the ends were well burnt. With flamed forceps the pod was opened and the seeds placed between folds of sterile cotton. After a few days the seeds were dry and they were then taken in flamed forceps and put in test-tubes which had been plugged with cotton and sterilized. The tubes of seeds were then kept at room temperature until used.

Seeds were thus obtained in the summer of 1905 and 1906 from pea, vetch, bean and soy bean. These seeds were examined for bacteria by plating some of them in ordinary gelatin or agar media and in ash-maltose-agar and by dropping some into tubes of sterile bouillon. The seeds so treated imbibed moisture and in some instances germinated. Some of these cultures were kept for weeks, yet remained sterile and free from bacteria and fungi. Plate cultures showed occasional colonies, mostly moulds from the air, but occasionally the seeds contained living bacteria. This occurred more often with seeds which were discoloured or infested with weevils, or which came from broken or diseased pods.

Germination of the seeds. From one to three seeds were dropped into about 3 c. c. of boiling sterile water in a test-tube. The tubes were immediately cooled and incubated at 37° C and then at 25° C until the seeds germinated. After the first 24 hourse, the tubes were so inclined that the seeds were only partially in the water. Most of the pea and vetch seeds germinated in three days, but the beans did not germinate so well. The water in the tubes remained clear and bright and free from bacteria, except in an occasional tube in which the liquid became very turbid and contained bacteria, sometimes small and slender rods and at other times large, motile bacilli in chains. The seed germinated well in a tube of ash-maltose-agar prepared as for the growth of Leguminosae (see media). After three days the seeds were kept in the diffuse daylight of the room, and after five days or more the seeds which had germinated and which were found free from bacteria were planted in the flasks of ash-maltose-agar, prepared as elsewhere described, the plug was removed from the test-tube, the mouth of the test-tube was flamed and the liquid, if any, was poured away. The plug was then removed an instant from the mouth of the flask containing the ash-maltose-agar and the germinating seed was shaken from the test-tube into the flask, and the plug was re-inserted into the mouth of the flask. The parchment paper was tied in place over the cotton plug and the flask weighed and set aside in diffuse daylight in the laboratory. A number of flask cultures were prepared in this way on the same day and were kept some days before any were inoculated in order to observe possible contaminations. Some of the flasks were then inoculated with a pure culture of Ps. radicicola and some were kept uninoculated as controls. The flasks were usually kept in a greenhouse. At intervals the flasks were weighed to determine the loss of water by evaporation. The growth of the plant, both root and stem,

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

was observed and measured through the glass and through the transparent medium. The presence or absence of contaminating fungi and bacteria was noted. The growth of Ps. radicicola in the inoculated flasks, the first indication of its invasion of the living roots, the from and growth of nodules and the results on the root system were studied and recorded daily or at convenient intervals.

One series of flasks was kept under observation for eight months and three other series for shorter periods. A final examination of the flasks was then made, as follows:

The medium was examined for micro-organisms by staining and by plate-cultures in ordinary agar and gelatin and in ash-maltose-agar. A nodule, if any were present, was taken from the roots with sterile forceps and plate cultures in ash-maltose-agar were made from it in the manner already described (see isolation of Ps. radicicola from nodules). Stains were also made from this nodule and from others. The roots were examined by staining and when a general invasion was observed cultures were also made from the interiors of the roots so invaded. Control cultures in the flasks not inoculated were treated in a corresponding manner, stains and plate cultures being made from the medium and from the roots. The plant was then drawn out entire from the flask and the roots and stems were measured and sometimes weighed. In some cases nitrogen determinations were made from the medium and from the plants. The nodules were counted and weighed.

The loss of water by evaporation was found not to vary much in flasks of the same series. The average loss of seven flasks grown during 146 days, each containing 250 grams of medium, was $^1/_4$ gram per day, at which rate the medium would be exhausted in 1000 days. The flasks were simply plugged with cotton and the cultures were grown in a living room heated by steam. The loss was less from a series having parchment paper tied over the mouths of the flasks. In this case, the medium would have been exhausted in a little less than three years. The plants grew vigorously in the agar, especially at first, later, uninoculated plants gradually withered or even died as if from nitrogen starvation. The inoculated plants easily thrived as long as they were kept.

Contaminating bacteria and moulds sometimes appeared in the flasks a few days after the seeds were planted in them; these were without effect on the plant and were never observed to cause or interfere with nodule formation.

In all inoculated flasks nodules appeared usually in about a month. They were sometimes few and large, sometimes many and small; in one case as many as 70 developed on the roots of one plant. The nodules continued to increase measurably in size as long as the cultures were observed and were about the same form as seen on plants in the field, but occasionally larger. In the absence of root hairs, infection began as a small transparent spot in the root. Nodule formation and general infection of the root appeared to check extensive root formation. In all inoculated flasks growth of Ps. radicicola was copious and characteristic, spreading as a thin layer over the agar and penetrating the agar along with the roots so that each root was surrounded even to its growing tip with a cylinder of growth.

On final examination, Ps. radicicola was found by stains and by plate cultures in the medium of the inoculated flasks and no other

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

organisms were present, or in some cases moulds and other bacteria were found.

A general infection of the roots generally accompanied nodule formation.

The stains from the nodules showed that simple rods sometimes prevail and sometimes branched and irregular forms.

Nodules were never formed and root infection was never observed in uninoculated controls.

The presence of Ps. radicicola was never detected by staining nor by cultures in uninoculated controls, where bacteria and fungi were absent or sometimes present in the medium, but never in the living roots.

The species on which nodules have formed in flask cultures on ash-maltose-agar are Phaseolus vulgaris, Vicia villosa, Pisum sativum and Glycine hispida.

Cross inoculations have not been observed. Pea and vetch growing in the same flask, which was inoculated with vetch culture, formed abundant nodules and root infection occurred in the vetch, but the pea showed no infection whatever. Ps. radicicola was isolated from the nodules on this vetch and plates from the peas were negative. The like was true of bean and pea growing in the same flask and inoculated with pea culture. Nodules formed on the pea only.

The notes regarding the growth of legumes in all our flasks are not given, but a few examples will suffice to give the necessary information regarding the inoculations, growth of plants and methods of isolation; and we wish to point out the value of this method to any one engaged in biological problems associated not only with legume bacteria, but also with the bacterial and fungus diseases of plants. All conditions are better under control and seem to us to offer advantages over the methods devised by Marshall Ward in his study of certain rusts.

Flask cultures. Seeds of Vicia villosa were taken from the pods under sterile conditions July 2nd, 1904, and were distributed in tubes containing sterile water December 29th, 1904. By January 1, 1905 eight seeds had germinated and all were free from bacteria. The water in the tubes was clear and stains from it were negative.

One seed was planted January 1, 1905, in each of seven 1000 c. c. Erlenmeyer flasks containing each 200 c. c. of ash-maltose-agar, R 51. The cotton plug was removed, the seed was dropped into the flask by means of flamed forceps and the radicle was pressed into the agar by means of a flamed and cooled glass rod. The plug was replaced in the mouth of the flask. The flasks were then kept in the window of a living room and on sunny days were protected by a piece of cheese cloth.

The culture used to inoculate flasks I, III and V was isolated from a nodule of Vicia villosa on July 6, 1904, in ash-maltose-agar R 34, and a colony was transferred to R 44, July 11, 1904. A single needleful of the growth on R 44 was used to inoculate all three flasks January 7, 1905. In two days there was growth of the culture in the inoculated flasks. This growth increased rapidly and in eight days there was a copious, wetshining, mucilaginous layer covering nearly the whole surface of the agar. This growth now began to accompany the growing roots, and from this time on every ramification of the roots was surrounded by a thin cylinder of bacterial growth. This growth penetrated

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

the solid agar a little distance in advance of the growing root tips (see photographs 15, 16 and 17).

Flasks II, IV, VI and VII were not inoculated and no bacterial nodules appeared on the roots of these plants.

Flask I. On February 7, 1905, there were 10 nodules on the roots of plant 1. The largest was 2 m. m. long. On April 22, there were 10 nodules, 8 large and 2 small, the largest was 2 × 8 m. m.

Flask III. On February 7, 1905, there were four nodules on the roots of plant 3. The largest was 3 m. m. long. On March 2 there were eight nodules, three large and 5 small, the largest $1^1/_2 \times 5$ m. m. On April 22 there were eight nodules, the largest 2 × 4 m. m. On May 31, there were 8 nodules; the roots were otherwise smooth.

Flask V. On February 7, there were 2 nodules; March 2, 5 nodules; April 22, 6 large and 4 small nodules; September 25, 6 large and 7 small nodules, also a general infection of the roots.

The largest nodule was 26 m. m. long. Nine of the roots were coiled at the tips. October 19th, the largest nodule was 30 m. m. long and 2 m. m. forked at the apex. A part of the nodule was green, having taken on chlorophyll. The largest nodule was examined by staining and only rods and no branching forms were found. Seven other nodules from this plant were examined. The bacteria were mostly rods, branched forms occurred but were infrequent. A stain from the agar showed numerous rods like Ps. radicicola.

Contaminations in flask V. No bacterial contaminations were observed, but one mould colony developed by January 7th and gradually spread over most of the surface of the agar. No cultures were made from this flask.

Flask I, nodule II, plate cultures May 31, 1905. The nodule was immersed in mercuric chloride solution 1:1000 for one and one half minutes and plate cultures were made from it in the usual manner. Typical colonies of Ps. radicicola developed which became viscid, drawing out in slender threads when touched with the needle. The cells were like Ps. radicicola. A culture in ash-maltose-water from this nodule gave a characteristic growth and branched forms were numerous.

Plate cultures were made from the agar in Flask I, May 31, 1905, in ash-maltose-agar R 78 and R 77. Numerous colonies like Ps. radicicola developed in 12 days, also numerous red colonies of a small bacillus.

Flask II, not inoculated. No nodules formed on the roots as long as the plant was observed. The roots became nodose or knotted by March 11th and continued so.

Plate cultures were made June 1, 1905, from flask II. These developed numerous colonies of a yellow Diplococcus, but no colonies resembling Ps. radicicola. Plate cultures in ash-maltose-agar R 78 from one of the nodose roots gave numerous colonies of a yellow Diplococcus but no other bacteria.

The swellings in the roots of this and other plants of this series were not bacterial nodules, and bacteria were not found in their cells as long as the plants remained alive. The outer tissues of the nodose parts of the roots were ruptured, especially the longitudinal walls of the cells which separated exposing the inner tissue as columnar chains of cells. The bacteria which contaminated the cultures had to some

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

extent lodged in these open spaces of the ruptured tissue, but their position here appeared to be only accidental (see photograph 18 and 19).

Flask IV, not inoculated. The plant began to decline after March 11th as if from nitrogen starvation and by May 31st there was only a little life remaining. No bacterial colonies formed but the roots became very nodose because of the internal swelling and rupture of the tissues. The flask was examined October 19th. There was a small bacillus present in great numbers and invading the decaying tissues of the root and stem. The bacilli were mostly joined end to end in pairs and did not resemble Ps. radicicola.

Flask VI, not inoculated. No bacterial nodules appeared on the roots as long as the flask was observed until October 19th. The roots became nodose because of a swelling and rupture of the tissues. There were some living shoots up to September 25th. On October 19th the roots only appeared to be alive. On examination of the roots Ps. radicicola was not to be found.

Flask X, containing two pea seeds was inoculated September 12th, 1905 with a culture obtained from a nodule on Pisum sativum, which had been grown on artificial media one year and 199 days.

On December 12th, 1905, there was no bacteria visible in the medium, which was blue with the litmus, except just beneath the seed, there the medium had become acid. One of the plants had formed no roots and it afterwards died without forming any roots. The other plant had a stem 5 c. m. long and a root 1 c. m. long on December 12th.

The plant which lived had 8 nodules February 11th, 1906, and 35 nodules on March 23rd. By May 7th there were 80 nodules (see photograph 20, Flask 2, taken February 20th, illustrates this flask culture).

On March 23rd, the only evident contamination was one mould colony. On that date the roots were vigorous, forming a closely tangled mass between the glass and the agar. The nodules were all small and almost round. The total weight on April 23rd was 430 grams, that is, there was a loss of 20 grams in 121 days, or less than 0,2 gram per day. At that rate the 250 grams of medium in the flask would have exhausted in 1250 days or 3 years, 5 months.

The final examination of this plant was made on May 7th 1906. There were two mould colonies present in the flask, and an abundant growth of Ps. radicicola over the surface of the agar, this film was mucilaginous, drawing out in slimy threads when touched with the needle. A stain made with saturated alcoholic gentian violet showed that the cells were of characteristic appearance. No bacterial contamination was detected by staining but spores and mycelium of the mould were seen.

The medium was still alkaline except near the roots, where the colour was largely reduced. The roots showed both general invasion and nodule formation, the nodules appearing above and below the swollen and infected parts of the roots. All the main roots were swollen and contained Ps. radicicola in great numbers. A selected nodule showed numerous short and long rods, some swollen and clavate with banded protoplasm, and others with branching forms, cultures were from the agar, from a nodule and from an infected root. The plate containing medium R 82 inoculated from the surface growth in the flask developed only numerous and typical colonies of Ps. radicicola. Stained prepara-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tions from these mucilaginous colonies showed the usual single polar flagellum.

Cultures from a nodule, handled in the manner already described, in medium R 102 produced numerous typical colonies of Ps. radicicola between the fourth and tenth days. The colonies were mucilaginous and drew out in slimy threads and the cells were uniflagellate. In plates containing medium R 82 numerous colonies developed in two days, and sub-cultures in other media showed in all respects the characteristic growth of Ps. radicicola.

The same process were carried out in detail with material from an infected root, and cultures and stains confirmed the presence of Ps. radicicola in this root.

This method of flask culture, inoculation and isolation was carried out in detail with all our flasks, thus working out thoroughly the four cardinal requirements as set forth by Koch in his postulates.

Flask IX. A control was planted September 12th, 1905, with one germinating pea seed. The plant grew until May 7th 1906, when an examination was made. The medium was acid in the vicinity of the roots. The growth was moderate. The flask had not been inoculated and no nodules formed on the roots. There was no evidence at any time of any contamination in the flask. On May 7th, 1906, stains were made from the agar in the flask, but these were negative. A piece of the living root was crushed on a slide and stained but no bacteria were seen.

On the same date plate cultures were made in ash-maltose-agar R 102 and R 82 from the agar in the flask and from the living roots, but these all remained negative after 24 days.

Flask VIII. Was planted on December 12th 1905, with one germinating pea and one germinating vetch seed. The flask contained 250 grams of medium R 83. The loss by evaporation during the 159 days of growth was 22 grams or 0,138 grams per day.

Inoculation. The flask was then inoculated with a pure culture of Ps. radicicola obtained from a vetch nodule on July 6th, 1905 and had been grown on medium R 44 since July 12, 1905, a period of 5 months. In twenty-four hours at room temperature there was good growth of the organism on the agar and in the water of condensation.

Growth. Both plants grew well, the vetch more vigorously than the pea. On January 17th 1906, there were 6 nodules on the vetch and none on the pea. On March 23rd the largest nodules on the vetch was 6 m. m. long and clove shaped. As the roots of both vetch and pea penetrated the agar, the culture accompanied them and could be observed as a cylinder of growth around the roots. On May 10th the final examination was made. The vetch was thrifty and green, with two main stems one 0,18 m. and the other 0,10 m. long, also other branches, so that the total lenght of stem was about 0,5 m. Photograph 20. Flask No. 3 was taken February 20th 1906, at which date there were 10 nodules on the vetch and none on the pea.

From the medium Ps. radicicola was isolated in pure culture sub-culture and staining methods furnished the proof of the identity.

From the vetch three nodules were taken, the largest was 9 m. m. long forking at a distance of 6 m. m. from the proximal ends into two nearly equal branches, each about 2 m. m. thick. The whole nodule was deep green with chlorophyll except at the growing ends, which were white.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

A section from the distal end showed a loose cortical layer and a central mass of bacterioidal tissue, brownish in colour, and mainly composed of bacteria. There were few simple rods but many numerous and beautifully branched and twice branched cells. Cultures obtained from this nodule gave pure cultures of Ps. radicicola, confirmed by sub-cultures and staining reactions (polar flagellum). Direct examination of the other two nodules and cultures thereform gave identical results. General infection of the roots had also taken place, pure cultures of Ps. radicicola were obtained from them.

There were no nodules present on the pea. Four plates made from the interior of the pea root were all negative. The following media, R 82, R 87 and R 103 were used and plates kept 14 days.

Flask VII containing 250 grams of medium R 82, was planted November 29th, 1905, with two germinating pea seeds. It was not inoculated, no bacteria were present and no nodules developed.

One mould colony developed by December 12th 1905. This colony increased in size and by May 4th, 1906, it covered perhaps one fourth of the surface of the agar with a thin, zoned growth.

One of the peas formed no roots and died later, the other grew well, especially the roots. The energy of the plant seemed largely spent in root formation. The roots were long and slender and smooth without evident root hairs. The stem grew well but after several months began to decline so that, though growth continued (the leaves and stems remaining green) it did not increase in size. This excessive root formation and this decline in the growth of green parts were attributed to nitrogen starvation. These phenomena were reversed in the case of the inoculated plants, i. e., the growth of stem and leaves was progressive without decline and was in excess of the growth of root.

Stains were made May 7th, 1906 from the surface of the agar and from the water of condensation in the bottom of the flask. Spores of a mould were numerous, but there were no bacteria. The stem of the plant that died had been invaded by the mould. Its juice was not turbid and on staining its tissue the mycelium of the fungus was found but no bacteria. The roots of the living plant were washed, crushed on a slide and stained, and no bacteria nor fungi were found in them.

Plate cultures in gelatin and as-maltose-agar were made May 7th, 1906, from the agar in the flask and from the crushed roots of the living plant. Numerous colonies of a mould like Penicillium glaucum developed in all the plates, but no bacterial colonies. The plates were observed for 24 days. Photograph 20, No. 1, taken February 20th, 1906 illustrates this flask culture.

11) Preparation and distribution of nitro-cultures. Preparation should be made in advance of the season. The medium can be made up early in the spring. It is a great convenience to have attached to the steam heating system a large sized autoclave, or a retort such as is used in canneries. A large sterilizer supplied with flowing steam is almost a necessity. Large enamel pails can be used for making up media, and a vacuum pump attached to the water pump in necessary for rapid filtration. If the bottles are new, it is sufficient to rinse them in cold water before filling. With a little experience one man can easily prepare the medium, fill and sterilize a gross and a half of bottles in a day.

Preparation of ash-maltose-agar for commercial cul-

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tures. Add 10 parts by weight of wood ashes to 100 parts of cold tap water and stir well, or add the ashes to the water when it is boiling hot and boil for a minute; filter within an hour through absorbent cotton by means of a vacuum pump. To 100 parts of the filtrate add 1 part of agar and 1 part of maltose, heat in steam, boil a minute over the flame and heat again in steam to dissolve the agar. Filter the hot solution through absorbent cotton by means of a vacuum pump. In filtering it is well to use a small plug of cotton thrust tight into the neck of the funnel, and to renew the plug each time after a litre or so has been filtered. When the medium is all filtered its reaction may be tested, using phenolphthalein as an indicator. The ash water may have been alkaline 9° to 12°, but the agar medium will be neutral or only faintly alkaline, not more than 1°. Siphon off the filtered medium into two-ounce French square, narrow-mouthed bottles of flint glass. Each bottle should receive about 35 c. c., which will nearly half fill it. Thrust a plug of cotton in the mouth of each bottle and sterilize in the autoclave at 10 pounds steam pressure for one-half to one hour, or in flowing steam for one hour on each of three successive days. Remove the bottles from the autoclave, incline them and allow the medium to solidify so as to present a large surface for inoculation. The medium will not usually be found favourable for growth when first made, but will be fit for use after two or three weeks and will improve with age.

Inoculation and growth of nitro-cultures in bottles. A mother culture for each species of legume is isolated the previous year or early the same spring, and from this several tubes or bottles of ash-maltose-agar are inoculated to be used from time to time for inoculating the bottles intended for distribution. These last may be inoculated by means of a sterile pipette containing the culture mixed with sterilized water, or it may be done by transferring a bit of the surface of the agar in the bottle by means of a platinum spatula. In two to four days at 25° C, the growth accumulates at the point of inoculation and gravitates down the incline surface of the agar as a raised, transparent, wet-shining band which increases in width. The wedge of agar may now be shaken over so that the inoculated surface comes against the glass. By shaking back and forth a few times, all five faces become inoculated and in four to twelve days on favourable media there is a copious, wet-shining, mucilaginous or slimy growth over the whole surface of the agar and the culture may be used, or it may be kept for a month if desired, and there will be further increase of growth. Just before mailing a culture, the cotton plub is replaced by a cork which is well flamed before inserting. The printed label is attached, the bottle is wrapped in a sheet of directions for using and packed with cotton in a wooden mailing case.

The materials required for 1000 packages of nitro-culture are as follows:

Agar	3,500 gr.		$ 4,00
Maltose	3,500 „		„ 10,00
Bottles	1,000 „ at 2 c. a piece		„ 20,00
Printed labels and directions		1,000	„ 3,00
Mailing cases at 4 c. each		1,000	„ 40,00
Postage stamps at 7 c. per case		1,000	„ 70,00
			$ 147,00

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

$ 147,00 for 1000 bottles or about $14^3/_4$ c. a piece, as each bottle contains enough culture for 60 pounds of seed, the actual cost per acre will be less than 4 c. Making allowance for labour, steam etc., these cultures should not cost more than 25 c. per acre, as compared with $ 2.00 per acre charged by some commercial firms.

This method of preparing and using nitro-cultures offers several advantages. Each culture is, or may easily be, a pure culture and a living culture, for the growth in the agar is easily seen and is highly characteristic so that failure to grow or possible contaminations are easily detected. There are at least two staining reactions, both easy of application, and so far as known, peculiar to Pseudomonas radicicola (see staining methods). The burden and responsibility of preparing the media and growing the cultures is placed, not on the shoulders of the farmer, but rests with the bacteriologist, where it belongs. A competent worker can by these means isolate a pure culture of the nodule bacteria from a leguminous plant, grow it, prove that it is appropriate and efficient and distribute it alive and in pure culture at reasonable cost, and an intelligent farmer can apply the culture to his seed and observe whether or not the nodules form and whether or not the crop is benefited.

A number of cultures prepared in this manner were distributed throughout Canada in the spring of 1905. The results of this distribution were published, in March 1906, by the Ontario Department of Agriculture as Bulletin 148 „Co-operative experiment with nodule — forming bacteria“, and a short summary of these results are here given.

The samples were sent all over Canada from Prince Edward Island to British Columbia, the number of cultures being as follows:

Ontario	76	Manitoba	23
Nova Scotia	66	Assiniboia	13
New Brunswick	11	Alberta	12
P. E. Island	17	British Columbia	15
Cape Breton	1	United States	2
Quebec	10	Total	246

At the end of the season a circular letter was sent to all who had received cultures, asking what success each experimenter had had. These reports may be summarised thus:

Crop	Total No. of reports received	Inoculation successful, with increased growth of crop	Organisms already present in the soil	No advantages from inoculation
Lucerne or alfalfa	59	43	1	15
Red Clover	47	31	1	15
Peas	12	7	1	4
Beans	9	5	—	4
Alsike	2	1	—	1
White Clover	1	1	—	—
Vetch	3	2	—	1
Soy Bean	1	1	—	—
	134	91	3	40

In order to give an idea of these reports, a number of extract are given from them which show the benefit some experimenters have obtained from the use of nitro-cultures.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Taylor Village, N. B. I put three acres with the treated seed and three acres without the nitro-culture on a piece of heavy land, and in examining the plants from time to time I found that nodules were quite plentiful on the plants from the treated seed, and none on the plants from the untreated seed, and none on the plants from the untreated seed and I also found the growth and thriftiness quite marked in favor of the plants from the nitro-treated seed. (Red clover.) River John, N. S. The plants from the treated seed were thicker and thriftier than those without the nitro-cultures, which were thin and spindly. The roots on the treated spot being loaded with nodules and very fibrous, while on the untreated there is far less root growth. (Red Clover.)

Colwood, B. C. The part treated with nitro-culture looks green and more vigorous than the untreated. Nodules are numerous on the treated portion. (Red Clover.)

Colina B. C. The clover plants were a lot better on the treated land. (Red Clover.)

Emerson, Man. On some plants treated the nodules were quite numerous. Those having nodules were very vigorous, but the others have made but small growth. (Red Clover.)

Neepawa, Man. The vigor of plants from seed treated with nitro-culture was very good. The untreated seed produced pale and short plants. (Red Clover.)

Edmonton, Alta. Numerous nodules on plants from treated seed and very healthy stand. With the untreated seed the plants were sickly with a few healthy stalks. (Red Clover.)

Deep Brook, N. S. Soon after seeding I commenced examining plants on the treated patch and found nodules present which increased in size and number each week as the season advanced. There was a marked difference between the plants from untreated and treated seed in favor of the latter. (Red Clover.)

Berwick, N. S. The plants from treated seed were quite vigorous those from untreated only half as high. (Red Clover.)

Cypress River, Man. Plants from treated seed very strong with numerous nodules, without nitro-culture much smaller and weaker. (Red Clover.)

Naweig, N. B. Very vigorous and numerous nodules from the treated seed; not nearly so vigorous without nitro-culture. (Beans.)

Mount Salem, Ont. The nodules on the beans not treated were small, about the size of pin heads, and pods on plants were short. On the plants treated the nodules were as large as small peas, growing tight against one another. The pods on the plants were longer and the plants withstood dry weather better than those not treated, being green and flourishing when the others were dried up. The beans when ripe were bright and even in the pods. I exhibited half a bushel of these at the East Elgin Fair and secured first prize on them. (Beans.)

Lion's Head, Ont. The alfalfa seed sown by me this spring, and treated with nitro-culture obtained from you, has grown without a check. That without the culture came up in patches, but did no more. As the alfalfa has failed here before I attribute my success to the culture.

Round Hill, N. S. From treated seed the growth of plants was 25 inches, from seed untreated the growth about one inch. (Alfalfa.)

Mount Stewart, P. E. I. Plants from treated seed were dark

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

green and quite vigorous. From untreated seed the plants were yellow and unthrifty. (Alfalfa.)

Colquitz, B. C. I am not a believer in nitro-culture, or at least was very skeptical as to the treatment being of any value whatever. I have been unable, however, to shut my eyes to the fact as shown by my own land. The land had been well subsoiled in preparation to a depth of from 16 to 18 inches, and the portion upon which the nitro culture was not used was treated in every way as well as the other. The plants from the treated seed were very strong and sown with nurse crop are now about 8 inches high. From untreated seed the plants are weak in appearance and only about 3 inches high. (Alfalfa.)

Cloverdale, B. C. Plants from treated seed are healthy in colour and 18 inches high, from untreated seed 4 to 6 inches high and yellow. I may say in conclusions that the quarter acre of untreated seed was planted on better land which had been under cultivation in root crops for two years, and had been slightly manured with barn yard manure and lime previously. The treated seed was planted on absolutely new forest land which is almost void of humus and available nitrogen. This speaks well for the cultures. (Alfalfa.)

Charlottetown, P. E. I. The boundary between the two plots is distinctly marked, that growing from the inoculated seed is a richer green and of stronger growth. (Alfalfa.)

St. Chaterines, Ont. The culture was used on Alfalfa sown in April on fall wheat about 15 pounds per acre. The stand at present is considered good, a difference being evident in favor of the nitro-culture treated seed. (Alfalfa.)

The results for the season of 1906 have been just as favourable and these will be made the subject of a special report.

Photomicrographs.

The photo-micrographs of bacteria × 1500, taken with C. Zeiss Camera and lenses, with acetelene light as radiant.

1. Ps. radicicola, from a nodule of Melilotus alba.
2. Ps. radicicola, from a nodule of Medicago sativa.
3. Ps. radicicola, from a nodule of Medicago sativa. The plant was grown in garden soil in a test-tube.
4. Ps. radicicola, from a culture on medium R 49. Age of culture 27 days.
5. Ps. radicicola, from a nodule of Vicia villosa. Plant grown in ash-maltose-agar in a flask, Jan. 1, 1905, to May 10, 1905. From this nodule a pure culture was isolated.
6. Ps. radicicola, from a nodule of Medicago sativa.
7. Ps. radicicola, from a nodule of Vicia villosa. Plant grown in ash-maltose-agar in a flask. Jan. 1, 1905, to May 31, 1905.
8. Ps. radicicola, from a liquid culture (R 93) obtained from Vicia villosa. From the slimy sediment, shows branched forms. Amyl Gram stain. The corresponding agar stain showed flagella but no branched form.
9. Ps. radicicola, from Lathyrus sativus. Culture on R 81. Age 17 days at 25° C. Stained with saturated alcoholic gentian violet. The mucilage of the culture takes the stain, the cells and their flagella do not.
10. Ps. radicicola, from Phaseolus vulgaris. Grown on ash-maltose-agar for 60 days at room temperature. Stained with Kütscher's gentian violet.
11. Ps. radicicola. Same preparation as 28, but stained to show slime threads. Kütscher's gentian violet.
12. Ps. radicicola, from Trifolium pratense. From sediment of an ash-maltose-water culture. Age 16 days at 25° C. Much branched cell, such cells are frequent in the sediment.
13. Ps. radicicola, from Vicia villosa. Isolated from a nodule July 6, 1904, by plating in medium R 34. One colony transferred to medium R 44 on July 11, 1904, and from this culture it was plated in medium R 81, March 8, 1906, that is after

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

F. C. Harrison *and* **B. Barlow**, *The nodule organism of the Leguminosae.*

Fig. 2.

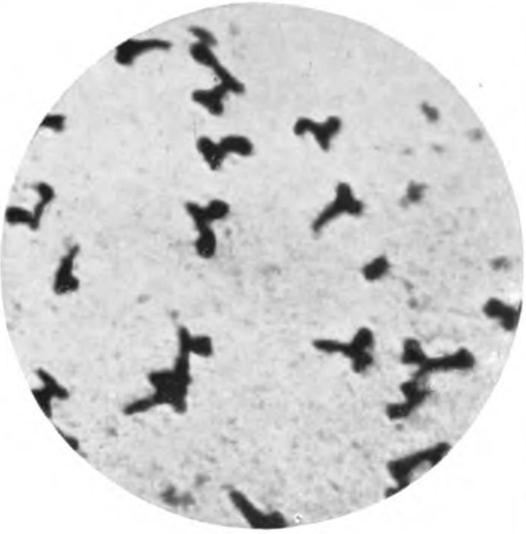


Fig. 5.

Fig. 6.

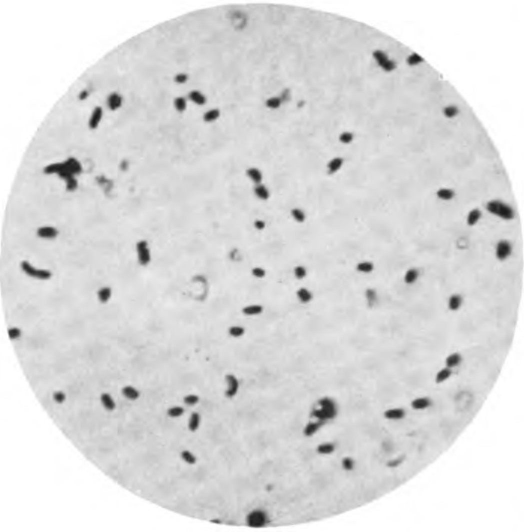


Fig. 7.

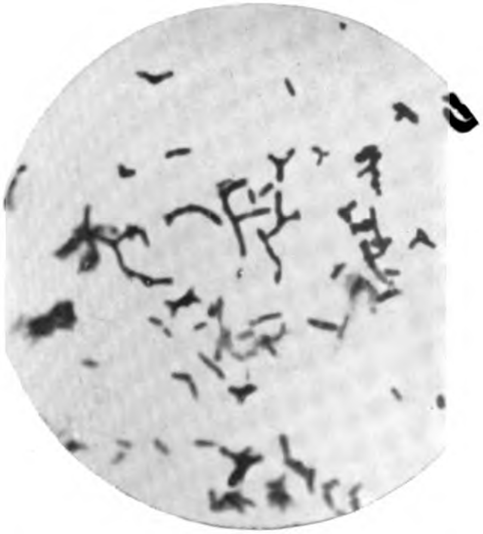


Fig. 8.

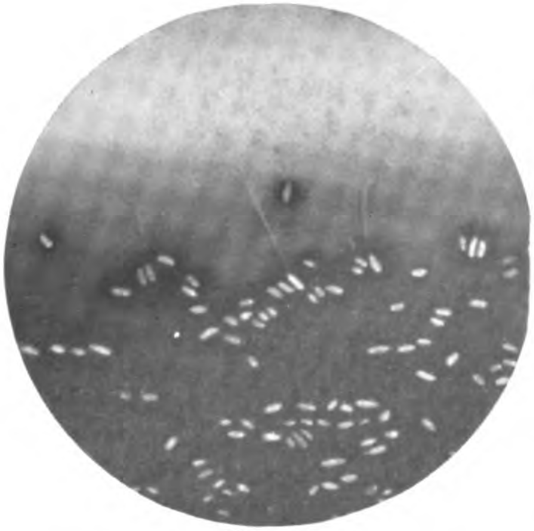


Fig. 9.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

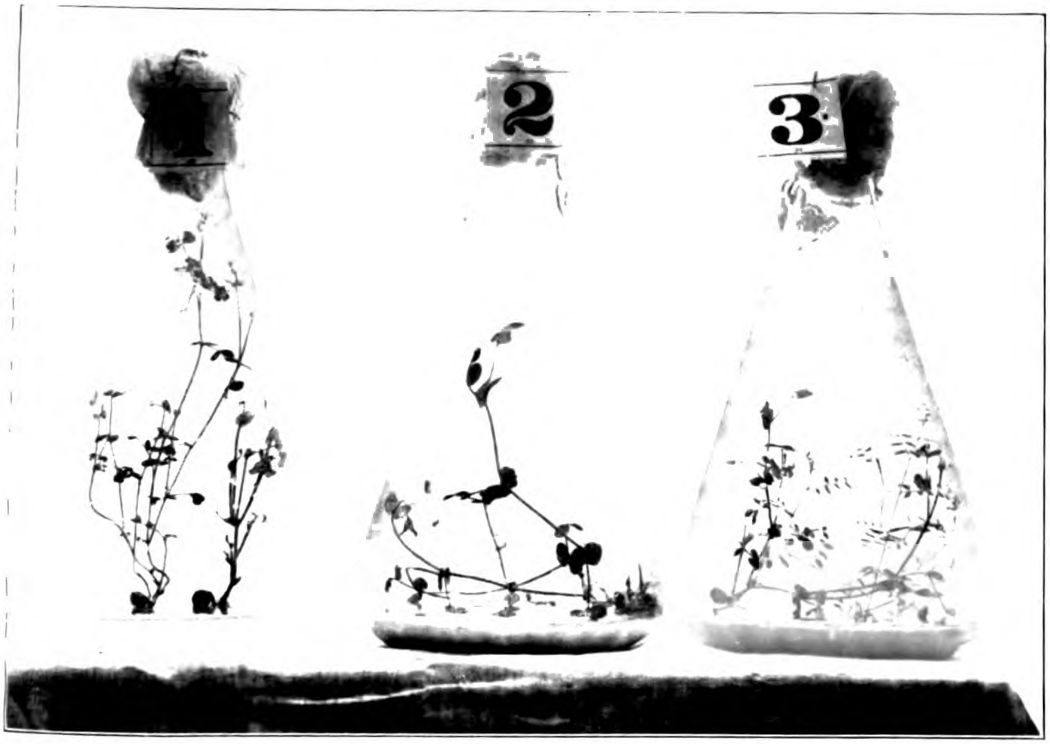


Fig. 20.

Fig. 23.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

F. C. Harrison *and* **B. Barlow,** *The nodule organism of the Leguminosae.*

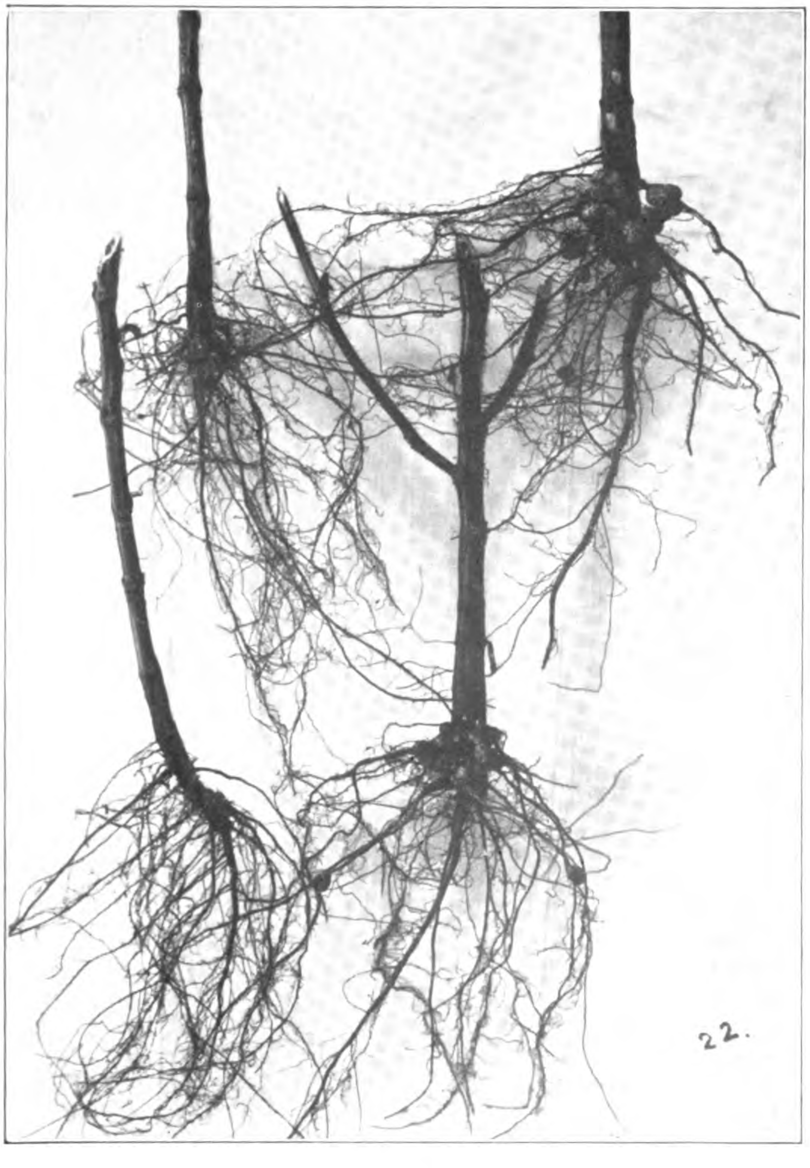


Fig. 22.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

a lapse of 597 days at room temperature. Stained preparation was made from one of the colonies which developed after nine days growth. Kütscher's gentian violet stain for the slime threads.

14. Ps. radicicola showing flagella from Vicia villosa. From a culture on ash-maltose-agar grown at 25° C for 16 days. Stained with saturated alcoholic gentian violet.

15. Vicia villosa. Plant 1 grown in ash-maltose-agar. The germinated seed free from bacteria was planted Jan. 1, 1905. The surface of the agar was inoculated Jan. 7, with a pure culture of Ps. radicicola from Vicia villosa. Growth vigorous for 4 months. Photo. April 27, 1905.

16. Photo of bottom of flask of plant 1, Vicia villosa, showing club shaped nodules on the roots, enlarged.

17. Photo of bottom of flask of plant 1, Vicia villosa, showing moderate growth of roots, which are smooth except for the nodules. Largest nodules 8×2 m. m. after 4 months growth.

18. Vicia villosa, plant 2. View showing the growth of roots. Not inoculated and no nodules formed. The roots did not grow smoothly like those of the inoculated plants, but became very nodose. As the growth of the stem and leaf gradually declined, the root formation became excessive. Photo after 4 months growth.

19. Vicia villosa, plant 2. Showing growth of stem, and leaf, same plant as fig. 38. Photo after four months growth.

20. Three flask cultures taken 10, II, 06. 1. Flask VII containing two pea seeds planted Nov. 29th, 1905. It was not inoculated. No bacteria were present and no nodules developed. 2. Flask X containing two pea seeds inoculated 12. IX. 05. The plant which lived had eight nodules, at the time the photograph was taken. On May 4th it had 80. 3. Flask VIII planted on 12. XII. 05 with one germinating pea and one germinating vetch seed. Inoculated with Ps. radicicola obtained from vetch. 10 nodules developed on the vetch, none on the pea.

21. Soy Bean. Two plants grown in the open, the one on the right inoculated at the time of seeding with a culture of Ps. radicicola obtained from Soy, the one on the left untreated.

22. Soy Bean roots. Those on the right from inoculated plants, those on the left from untreated ones.

23. Photograph of colonies of Ps. radicicola obtained from Lathyrus sativus. This culture was made from a laboratory stock culture. 1 year and 237 days old. The medium used was R 87. Age of colonies 9 days.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Euphorbia-bewohnenden Melampsoren.

Von **Wilhelm Müller**, Bern.

Mit 31 Figuren.

Einleitung.

Nach den bisherigen Publikationen zerfallen die auf Euphorbia lebenden Melampsoren in 3 Arten. Es sind dies:

1) Melampsora Helioscopiae (Pers.) Winter, wofür Saccardo[1]) nicht weniger als 22 Nährpflanzen angibt. Sie galt bis ins Jahr 1895 als eine Hemimelampsora. Damals wies jedoch Dietel[2]) ihren Eu-Melampsorencharakter nach. E. Jacky[3]) erhielt dann 3 Jahre später (1898) durch Infektion mit Teleutosporen auf Euphorbia Cyparissias direkt ein Uredomycel und hält daher an der alten Auffassung fest. — Weitere Experimente mit diesem Pilz sind aus der Literatur keine bekannt.

---

1) Saccardo, Sylloge fungorum. Bd. XIII.

2) Dietel, P., Ueber den Generationswechsel von Mel. Helioscopiae und Mel. vernalis. (Forstl. naturwiss. Zeitschr. 1895. Heft 5. p. 373.)

3) Jacky, E., Untersuchungen über einige schweizerische Rostpilze. (Ber. der schweiz. botan. Gesellsch. Heft 9. 1899. p. 49 ff.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Mel. Euphorbiae dulcis Otth. Diese Species wurde von G. Otth[1]) schon im Jahre 1868 aufgestellt. Dietel[2]), der sie ebenfalls von der Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter verschieden fand und damals von den Otthschen Untersuchungen nichts wußte, nannte sie wegen der dichtgedrängten Stellung der Teleutosporenlager: Mel. congregata (1888). Die beiden Namen sind also synonym. Dietel zog später den Namen zurück[3]) und gab zu gleicher Zeit die Entwickelungsgeschichte des Pilzes an. Bis dahin waren davon nur Uredo- und Teleutosporen bekannt. Er fand das zugehörige Aecidium resp. Caeoma, welches er kurz beschreibt.

Im Jahre 1889 stellte dann Magnus[4]) infolge morphologischer Uebereinstimmung der Teleutosporen die auf Euph. carniolica Jacq. vorkommende Melampsora unter den Begriff der Mel. Euphorbiae dulcis Otth.

3) Melampsora Gelmi Bres., im Jahre 1897 von Giov. Bresadola[5]) beschrieben. Sie lebt auf Euph. dendroides L. und unterscheidet sich durch ihre sehr langen Teleutosporen.

Es stellte sich nun die Frage, ob nicht vielleicht eine weitere Spezialisation der Euphorbia-Melampsoren vorliege. Im Sommer 1905 und 1906 führte ich zahlreiche Infektionsversuche durch, welche in der Tat eine weitgehende Spezialisation ergaben. Dieses Ergebnis, das ich in einer vorläufigen Mitteilung[6]) publizierte, machte eine erneute morphologische Untersuchung notwendig. Es zerfällt daher meine Arbeit in einen

I. Teil, welcher die biologischen Verhältnisse abhandelt, und in einen
II. Teil, der die morphologische Beschreibung der Pilzgruppe enthält.

Die Versuchseinrichtung und -Durchführung geschah großenteils nach den im bernischen botanischen Institut üblichen Verfahren[7]). Eine Schwierigkeit bot sich mir darin, daß ich vielfach die in Wasser aufgeweichten Blätter mit den Teleutosporen nicht direkt auf die Versuchskeimlinge auflegen durfte, da diese sonst leicht verfault wären. Ich half mir so, daß ich rings am Rande der Töpfe Holzpflöckchen einsteckte, diese mit Fäden netzartig verband und die sporentragenden Blättchen auf diesem Netze direkt über die Versuchspflänzchen legte. Für die zweckmäßigste Infektion mittelst Basidiosporen halte ich in unserem Falle die sogenannten Kistchenversuche. In einem Kistchen, welches die ausgesäten Versuchspflanzen enthält, wird das Teleutosporenmaterial auf der oberflächlichen Erdschicht ausgebreitet. Die Ueberwinterung erfolgt im Freien. Beim Keimen haben dann die Pflanzen

---

1) Otth, G., Sechster Nachtrag zu dem Verzeichnis schweizerischer Pilze von Trog. (Mitteilgn. der naturforschenden Gesellsch. in Bern a. d. Jahre 1868.)

2) Dietel, P., Ueber eine neue auf Euph. dulcis Jacq. vorkommende Melampsora. (Berichte der deutschen bot. Gesellsch. Bd. VI. 1888.)

3) Dietel, P., Ueber die Aecidien von Mel. Euph. dulcis Otth und Puccinia silvatica Schröter. (Oesterr. botan. Zeitschr. 1889. No. 7).

4) Magnus, P., Bemerkung zu der von P. Dietel auf Euph. dulcis Jacq. entdeckten Mel. (Hedwigia. 1889. p. 27).

5) Bresadola, G., Di una nuova specie di Uredinea. (Bullet. della società bot. Italiana. 1897. p. 74/75.)

6) Müller, W., Versuche mit Uredineen auf Euphorbien und Hypericum. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 210.)

7) Fischer, Ed., Entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen über Rostpilze. Bern 1898. — Bandi, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. Diss. Bern 1903. — Jordi, E., Beiträge zur Kenntnis der Papilionaceen-bewohnenden Uromyces-Arten. Diss. Bern 1904.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

leicht Gelegenheit, infiziert zu werden. Die Uredosporen wurden jeweilen in Wasser durch Schütteln von den Uredo-tragenden Blättern abgeschwemmt, und das so erhaltene Material mittelst eines feinen Verstäubers gleichmäßig auf die Versuchspflanzen aufgeblasen.

Infolge öfteren Mißlingens meiner Versuche probierte ich, die Keimung der Sporen durch Kälte zu befördern. Es war nämlich Eriksson[1]) gelungen, durch Einwirkenlassen einer bedeutenden Temperaturdifferenz eine viel größere Prozentzahl von Sporen zum Keimen zu bringen. Auch ich habe damit, wie sich im speciellen Teil zeigen wird, wenigstens mit Uredo günstige Resultate erzielt. Von den infizierten Pflanzen wurden einige über Nacht teils in den Keller, teils in einen Eiskasten (Minimaltemperatur —3°) gestellt. Während die nicht abgekühlten Pflanzen gesund blieben oder nur schwachen Erfolg aufwiesen, wurden diese bedeutend stärker befallen.

Ganz merkwürdig und teilweise unerklärlich ist es mir, daß von 14 Infektionsversuchen mit Uredo, die ich im Sommer 1905 ausführte, bloß ein einziger von Erfolg begleitet war, obwohl ich die nämlichen Infektionsverfahren anwandte wie im folgenden Jahr. Klimatische Einflüsse waren kaum schuld, da die vielen ähnlichen Versuche mit Uredineen, welche in der gleichen Zeit von anderen Praktikanten im Institut gemacht wurden, fast alle glückten. Auch die Keimfähigkeit meines Sporenmaterials ließ nichts zu wünschen übrig. Aus den gelungenen Versuchsreihen des letzten Sommers kann ich schließen, daß es durchaus nicht gleichgültig ist, in welchem Stadium sich die Pflanzen bei der Infektion befinden. Die im ersten Jahr verwendeten Versuchspflanzen waren meist fast oder ganz ausgewachsen und vielleicht lag darin die Ursache des Mißlingens. Doch werde ich bei Anlaß der Besprechung der Resultate darauf zurückkommen. Sicher ist, daß nicht schwächliche oder kränkelnde Individuen für den Pilz besonders disponiert sind; das konnte ich zur Genüge beobachten und ist übrigens schon von de Bary[2]) festgestellt worden, sagt er doch: „L'observation exacte ne rend cependant pas même vraisemblable que la production ou le développement de ces parasites soit déterminé par un état maladif de la plante hospitalière.“ Das Gewächshaus ist vielen Euphorbia-Arten nicht recht bekömmlich. Sie (besonders die Keimlinge) wachsen lang aus [E. exigua, falcata, helioscopia u. a.], werden gelblich, kurz mehr oder weniger anormal. Ferner ist mancher Species schon ein kurzes Verweilen unter den mit nassem Filtrierpapier belegten Glasglocken schädlich, was aus dem Abfallen von Blättern und dem schlechten Aussehen der betreffenden Pflanzen deutlich hervorgeht. Solche Versuchsobjekte wiesen meist keinen oder nur spärlichen Erfolg auf. Es könnte andererseits sogar möglich sein, daß bei solchen anormalen Verhältnissen, vielleicht infolge Fehlens eines spezifischen Reizes die Keimschläuche gar nicht in die Gewebe der Nährpflanze eindringen.

Meine Versuchspflanzen wurden meist aus Samen erzogen. Für ihre Pflege und manche andere Hilfeleistung bin ich Herrn Obergärtner Schenk und seinen Gehilfen viel Dank schuldig.

Bei der Auswahl der Pflanzen für meine Versuchsreihen war ich darauf bedacht, immer möglichst viele Euphorbia-Arten einzubeziehen

---

1) **Eriksson, J.**, Ueber die Förderung der Pilzsporenkeimung durch Kälte. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Abt. II. Bd. I. 1895. No. 15/16.)

2) **de Bary**, Du développement des champignons parasites. (Annales des sciences nat. 4. Série. T. XX. p. 99.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder, falls dies aus bestimmten Gründen nicht möglich war, wenigstens die der betreffenden Wirtspflanze systematisch nahe stehenden Species zu berücksichtigen.

Die Samen stammten aus verschiedenen botanischen Gärten. Ich will hier die Versuchspflanzen mit ihrem vollständigen Namen und ihrer Herkunft anführen, damit ich nachher, der Kürze halber, die Autornamen weglassen darf.

1. Euphorbia Amygdaloides L. (= E. sivatica)	Samen von Würzburg und Paris. Erwachsene Pflanzen am Weg von Twann nach Gaicht (Bern) ausgegraben.
2. E. characias L.	Samen von Rouen.
3. E. Cyparissias L.	„ „ Cöln; erwachsene Pflanzen aus dem botanischen Garten Bern und vom Aareufer beim Dählhölzli (bei Bern).
4. E. Cyathophora Murr.	Samen von Frankfurt.
5. E. dulcis Jcq.	Rhizome vom Aareufer jenseits der Elfenau (bei Bern).
6. E. Engelmanni Boiss.	Ausgewachsene Pfl. aus dem bot. Garten Bern.
7. E. Esula L.	Samen von Paris und Bremen.
8. E. exigua L.	„ „ „ „ Hamburg.
9. E. falcata L.	„ „ „ „ Marburg.
10. E. Gerardiana Jcq.	„ „ ? Ausgewachsene Pfl. vom Rhoneufer unweit Martigny (Wallis).
11. E. helioscopia L.	„ „ Marburg, Bonn, Hamburg.
12. E. humifusa Willd.	„ „ Hamburg.
13. E. Lathyris L.	„ „ Rouen.
14. E. Myrsinites L.	„ „ Bonn.
15. E. palustris L.	„ „ Würzburg.
16. E. Peplus L.	„ „ Paris, Rom, Bonn, Utrecht.
17. E. pilosa L.	„ „ Berlin.
18. E. platyphylla L.	„ „ Budapest, Lyon.
19. E. procera Breb.	„ „ Kiel.
20. E. spinosa L.	„ „ ?
21. E. stricta L.	„ „ Marburg.
22. E. verrucosa Lamk.	„ „ Rouen (keimte nicht).
23. E. virgata Waldst. et Kit.	„ „ ?

Die nicht oder noch nicht zu Versuchen verwendeten Euphorbien dienten mir jeweilen zur Kontrolle. Ich untersuchte sie von Zeit zu Zeit genau daraufhin, ob unser Rostpilz sich nicht auch auf ihnen vorfinde. Es trugen so diese Nachprüfungen viel bei zur Sicherstellung der Versuchsergebnisse.

I. Biologische Verhältnisse.

Ich schicke voraus, daß ich nur mit Pilzmaterial aus der Schweiz experimentieren konnte. Es kamen zur Verwendung die Melampsoren auf Euph. helioscopia, E. exigua, E. Peplus, E. Gerardiana, E. Cyparissias, E. stricta, E. Amygdaloides und E. dulcis.

a) Versuche mit Melampsora Helioscopiae (Pers.) Winter.

Bei den einleitend erwähnten Versuchen von Dietel und Jacky handelte es sich ausschließlich um Feststellung des Entwickelungsganges unserer Melampsora. Experimente zur Ermittelung einer allfälligen Spezialisation waren bis jetzt noch keine gemacht worden.

Die 22 Wirtspflanzen, die Saccardo für diese Uredineenspecies angibt, sind die folgenden:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

E. Amygdaloides	E. helioscopia	E. procera
E. angulata	E. lucida	E. prunifolia
E. Cyparissias	E. macrocarpa	E. saxatilis
E. dendroides	E. minima	E. stricta
E. Esula	E. palustris	E. verrucosa
E. exigua	E. Peplus	E. virgata
E. falcata	E. pilosa	
E. Gerardiana	E. platyphylla	

Davon standen mir 6 für meine Versuche nicht zur Verfügung, nämlich: E. angulata Jcq., E. lucida Waldst., E. macrocarpa Boiss. et Busc., E. minima L., E. prunifolia Jcq. und E. saxatilis Georgi, sämtliche in der Schweiz nicht einheimisch.

Es stellte sich bald heraus, daß die Species Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter als ein Kollektivbegriff für mehrere biologisch verschiedene Arten aufzufassen ist. Die nachfolgenden Versuchsreihen werden über die biologischen Verhältnisse dieses Pilzes einigen Aufschluß geben.

1. Infektionsmaterial von Euph. helioscopia.

Die Versuchsreihen I—III wurden mit Teleutosporen ausgeführt. Das Material stammte von Wingreis bei Twann (Bern) und aus der Umgebung von Gampelen (Berner Seeland) und war von mir am 11. und 15. Oktober 1905 gesammelt worden.

Versuchsreihe I.

Am 5. März 1906 leitete ich einen Kistchenversuch ein. Es waren ausgesät: E. Peplus, E. helioscopia, E. falcata, E. exigua, E. palustris, E. humifusa. — Das Kistchen stand vorerst im Freien. Am 30. März kam der Versuch, um ihn vor Fremdinfektion zu schützen, in ein Gewächshaus. Die Samen hatten mit Ausnahme von E. humifusa ziemlich gleichmäßig gekeimt, aber keiner der vielen Keimlinge wies jemals eine Spur eines Rostpilzes auf. — Ebenso resultatlos verliefen die Versuchsreihen II und III. Obgleich anderes Sporenmaterial (Wingreis, 11. Oktober 1905) und ein anderes Infektionsverfahren angewandt wurde — die sporentragenden Blätter wurden nach der oben beschriebenen Art auf Fäden unmittelbar über die Keimlinge resp. direkt auf die jüngeren Blätter der ganz oder teilweise ausgewachsenen Versuchspflanzen aufgelegt — gelang es mir nicht, irgend eine der Euphorbia-Arten zu infizieren. Die Versuche wurden am 20. April und 11. Mai eingeleitet. Auf feuchtgehaltene Objektträger ausgelegte Teleutosporen hatten allerdings bloß zweifelhafte Basidiosporen ergeben, so daß die Keimkraft der Sporen fraglich war. Nach Klebahn[1]) ist es jedoch durchaus nicht ausgeschlossen, „daß Sporen, die im Wasser nicht keimen, doch infizieren, wenn sie auf die Blätter der Nährpflanze gelangen". In unserem Falle traf das leider nicht zu. Besseren Erfolg hatte ich mit den Uredo-Infektionen.

Versuchsreihe IV.

Am 25. Mai 1905 fand ich bei Wingreis (Twann) stark mit Uredo befallene Euphorbia helioscopia. Ich infizierte damit am folgenden Tage:

1\. u. 2. E. helioscopia (in der Nähe des botanischen Gartens ausgegraben)
3\. u. 4. E. Cyparissias (aus dem botanischen Garten Bern)

1) Klebahn, H., Die wirtswechselnden Rostpilze, p. 21.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am 3. Juni waren alle Pflanzen noch gesund. Am 5. Juni aber fand ich No. 1 und 2 ziemlich gleichmäßig mit Uredo-Lagern besetzt, die sich von Tag zu Tag mehrten. Die beiden E. Cyparissias ließen keine Spur des Pilzes wahrnehmen.

Von 5 E. helioscopia, die ich als Kontrollpflanzen beobachtete, waren 3 schwach infiziert, 2 jedoch blieben während der ganzen Versuchsdauer gesund. Das Resultat dieser Reihe ist also nicht ganz einwandfrei und mußte deshalb verifiziert werden. Zwei analoge Versuchsreihen, die am 29. Juni und 24. Juli gleichen Jahres eingeleitet wurden, blieben aber erfolglos.

Versuchsreihe V.

Infektionsmaterial: Wieder Uredosporen von E. helioscopia, gesammelt am 30. März 1906 in einem Rebberg bei Gampelen. Es wurden am 31. März damit bestäubt:

1. u. 2. E. helioscopia, beinahe blühend.
3. E. Amygdaloides, vorjährige überwinterte Pflanze
4. E. dulcis aus Rhizomen von gesunden Pflanzen
5. E. Cyparissias dito
6. E. falcata
7. E. stricta
8. E. Peplus
9. u. 10. E. helioscopia
11. E. platyphylla

(6.–11.: 2—3 cm hohe Keimlinge, an denen nur die Kotyledonen entwickelt sind)

Am 14. April zeigte No. 1 an 3 unteren Blättern deutliche orangerote Pusteln. 2 weitere Blätter ließen mehrere kleine, schmutzigrote Flecken erkennen, die ich für junge Lager hielt. Nach 3 weiteren Tagen (17. April) bestätigte sich diese Vermutung; No. 2 wies 4 Lager an einem Stengelblatt auf und auch die beiden Töpfe mit den Keimlingen (V 9 und 10) zeigten sichere Anzeichen des Pilzes. Zwar war von je 3 Keimlingen nur einer befallen. — Die Infektion schritt nun von Tag zu Tag fort. Am 8. Mai waren sämtliche Sprosse der blühenden Pflanzen (No. 1 und 2) und alle 6 Keimlinge reichlich mit Uredo-Lagern besetzt, und zwar entstanden die Fruktifikationsorgane sowohl an den Stengeln wie auch an Blättern und Früchten. Sie saßen auf der Ober- und Unterseite der Blätter und waren oft in charakteristischen Gruppen angeordnet, indem 5 bis mehr kleine Pusteln ein zentrales Lager hofförmig umgaben. — Am 15. Mai ungefähr war der Höhepunkt der Uredo-Produktion erreicht, denn später konnte ich eine langsame Rückbildung der Lager beobachten.

Die befallenen Pflanzen entwickelten sich fast ganz normal und üppig weiter und kamen auch zur Fruchtbildung.

Am 9. Juni traten viele dunkelbraune bis schwarze Teleutosporenlager auf, und die kranken Pflanzen starben allmählich ab (23. Juli).

Alle anderen Versuchspflanzen wurden bei jeder Kontrolle genau mit der Lupe, und zwar in der Zeit vom 14. April bis 9. Juni 15mal, untersucht und erwiesen sich immer als gänzlich pilzfrei.

Versuchsreihe VI.

Am 5. Mai erhielt ich von meinem Bruder P. Müller, Pfarrer in Gampelen, neuerdings reichliches Uredo-Material auf E. helioscopia. Ich infizierte damit gleichen Tages:

1. E. helioscopia, gesund gebliebene Kontrollpflanze zu R. V, blühend + 1 im gleichen Topf nachträglich entstandener Keimling gleicher Art.
2. E. helioscopia, blühend
3. E. Cyparissias, Keiml., 2 cm hoch
4. u. 5. E. dulcis aus Rhizomen
6. E. Amygdaloides aus Rhizomen
7. E. falcata
8. E. stricta
9. E. platyphylla

(7.–9.: Keimlinge)

10. E. helioscopia
11. E. Peplus

(10.–11.: Keimlinge, 4 cm hoch)

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Schon nach 10 Tagen waren VI 1 und 2 über und über mit Uredo-Lagern bedeckt und ferner wiesen auch alle Keimlinge von VI 10 die orangefarbenen Pusteln auf, die in erster Linie, wie das schon bei V 9 und 10 der Fall war, an den Kotyledonen auftraten. Die Lager befanden sich meist auf der Unterseite der Blätter. — Die übrigen Pflanzen dieser Reihe blieben ganz gesund.

Versuchsreihe VII.

Da sich E. helioscopia und E. Peplus in ihrem äußern Habitus ziemlich ähnlich sehen und vielfach auch zusammen vorkommen, so machte ich, trotz der sicheren Resultate von Reihe V und VI, am 9. Juni den erneuten Versuch, 3 junge, als Unkraut im botanischen Garten aufgewachsene Pflänzchen der letztgenannten Art mit Uredosporen von Reihe V zu infizieren. Sie erwiesen sich auch diesmal als immun.

Am 6. Juli konnte ich feststellen, daß in dem Gewächshaus, worin sich die besprochenen Versuchsreihen der Isolation wegen befanden, alle Exemplare von E. helioscopia (auch diejenigen des Kistchenversuchs) vom Pilze befallen waren. Sämtliche anderen Species blieben gesund, obschon sie seit vielen Wochen in nächster Nähe der sehr reichlich Uredo-tragenden Pflanzen standen. Das Resultat der Versuche ist folglich ganz einwandfrei und kann folgendermaßen formuliert werden:

Ergebnis: 1) Die auf Euph. helioscopia vorkommende Melampsora benutzt nur diese Pflanze als Wirt.

2) Sie geht nicht über auf E. Amygdaloides, E. Cyparissias, E. dulcis, E. falcata, E. Peplus, E. platyphylla und E. stricta.

Sie darf deshalb mit vollem Recht als selbständige biologische Art von der auf den übrigen Euphorbien vorkommenden Mel. Helioscopiae abgetrennt werden. Ihrer Wirtspflanze nach nannte ich sie Melampsora Helioscopiae s. str.[1]).

2. Infektionsmaterial von Euph. exigua.

Versuchsreihe VIII.

Das Infektionsmaterial, Teleutosporen auf E. exigua, verdanke ich der Güte des Herrn Dr. P. Cruchet, Lehrer in Payerne (Waadt), der es im September 1905 in der Umgebung dieses Ortes sammelte. Es wurde am 14. Mai auf folgende Pflanzen aufgelegt:

1. E. exigua	Keimlinge 5—7 cm	7. E. Peplus	Keimlinge
2. E. Esula	„	8. E. platyphylla	„
3. E. falcata	„	9. E. Myrsinites	„
4. E. helioscopia	„	10. E. procera	„
5. E. „	blühend	11. E. Cyparissias	blühend
6. E. stricta	Keimlinge	12. E. dulcis	junge Sprosse

16. Mai: Zum Keimen ausgelegte Teleutosporen erzeugten spärliche Basidiosporen. — 5. Juni: Am Stengel eines Keimlings von VII 1 zeigt sich ein langgestrecktes Lager. Ob Caeoma- oder Uredo-Bildung, war makroskopisch nicht festzustellen, zumal gerade an Stengeln von Euphorbien oft strichförmige Uredo-Lager vorkommen (auf E. helioscopia und E. Peplus). — 9. Juni: Das Lager ist größer geworden. — 11. Juni: Der befallene Keimling wurde abgeschnitten und die Sporen zu Ver-

---

1) Müller, Wilh., l. c.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

suchsreihe IX verwendet. Ich notierte folgendes über das Aussehen der Fruktifikation: Das Lager bildete einen 2—3 mm langen, im Maximum 1 mm breiten, orangefarbenen Striemen auf dem Stengel. Dieser war rings um das Lager purporrot und ein wenig verdickt. Die Epidermis war deutlich aufgesprengt worden und die Sporen quollen gleichsam aus der Spalte heraus. Auffällige Deformation war nicht zu konstatieren.

Die am 11. Juni vorgenommene mikroskopische Untersuchung zeigte, daß ein Caeoma vorlag, da keine Paraphysen vorhanden waren.

Diese Tatsache spricht also zu Gunsten von Dietels[1]) Beobachtung und gegen diejenige Jacky's[2]), deren Untersuchungsergebnisse ich in der Einleitung anführte.

Von den übrigen Versuchspflanzen starb E. helioscopia (VIII 5) ab, die anderen blieben gesund.

Eine Wiederholung des Versuchs am 5. Juni verlief erfolglos, trotzdem die Teleutosporen auch damals noch keimfähig waren.

Versuchsreihe IX.

11. Juni: Mit den von Reihe VIII 1 erhaltenen Caeomasporen infizierte ich Keimlinge von

1. E. falcata
2. E. helioscopia
3. E. Peplus
4. E. exigua

12. Juni: Der Objektträger-Versuch ergibt keimende Caeomasporen. — 26. Juni: E. exigua IX 4 zeigt an einem Stengel unterhalb der Kotyledonen ein ziemlich großes Lager. — Am 2. Juli bemerkte ich, daß die Ausbruchstelle sich deutlich vergrößert hatte und notierte: Die kranke Stelle bedeckt ca. 5 mm lang die eine Seite des Stengels und besteht aus 5 mehr oder weniger voneinander getrennten Sporenlagern. Die Epidermis ist nirgends längs aufgerissen. Die anderen im nämlichen Topf befindlichen 10 Keimlinge zeigen noch nichts Verdächtiges.

Kontrollen vom 4. und 6. Juli ließen keinen Fortschritt der Infektion feststellen. — Am 11. Juli war der Stengel des bis jetzt einzig erkrankten Pflänzchens IX 4 ringsherum dicht mit hell orangefarbenen Pusteln besetzt und zwar auf eine Länge von 1 cm. Es waren Uredolager. — Bei einer letzten Durchsicht am 25. Juli fand ich einen 2. und 3. Keimling von IX 4 an Stengeln und Blättern (an diesen sowohl ober- als unterseits) mit ziemlich großen Lagern besetzt. Ein 4. und 5. Keimling waren schwach befallen. Dieser nachträgliche Erfolg ist jedenfalls großenteils auf Uredo-Infektion zurückzuführen, die von den erstentstandenen Fruktifikationen herrührte. — Auch hier blieben die anderen Versuchspflanzen während der ganzen Zeit absolut pilzfrei. — Des spärlichen Infektionsmateriales halber konnte die Reihe leider nicht umfangreicher angelegt werden.

Ergebnis der Versuchsreihen VIII und IX.

1) Die auf Euph. exigua lebende Melampsora befällt von den 11 Arten, mit denen experimentiert wurde, einzig wieder diese Species.

2) Es handelt sich um eine Eu-Melampsora, denn jedenfalls gingen dem Caeoma-Lager Pykniden voraus, die aber meiner Beobachtung entgingen. Ich habe dem Pilz, seines biologischen Verhaltens wegen,

1) Dietel, P., l. c.
2) Jacky, E., l. c.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Namen Melampsora Euphorbiae exiguae n. f. sp.[1]) gegeben.

3. Infektionsmaterial von Euph. Peplus.

Auch der auf Euph. Peplus vorkommende Rostpilz ging bis jetzt unter dem allgemeinen Namen Mel. Helioscopiae (Pers.). Meine experimentelle Untersuchung desselben ergab jedoch, daß wir es wiederum mit einer biologisch selbständigen Art zu tun haben.

Versuchsreihe X.

Das Infektionsmaterial, Teleutosporen auf Euph. Peplus, wurde am 21. Oktober 1905 in einem verwahrlosten Garten bei Bützberg (Bern) gesammelt und teilweise zu diesem Kistchenversuch verwendet. In das Kistchen waren am 5. März 1906 ausgesät worden:

1. E. Peplus	3. E. stricta
2. E. helioscopia	4. E. exigua

Am 30. März stellte ich es aus dem Freien in ein Gewächshaus, wo es bis Mitte Mai regelmäßigen Kontrollen unterzogen wurde.

Anfangs Juni wurde der Versuch, den ich für erfolglos hielt, wieder in den Garten gestellt. — Am 20. Juni fand ich bei einer zufälligen Durchsicht, daß die E. Peplus im Kistchen ziemlich reichlich mit jungen Sporenlagern besetzt waren. Der Versuch wurde sofort unter einem Glaskasten abgeschlossen und weiter beobachtet. Mikroskopische Untersuchung von vielen Pusteln ließ kopfige Paraphysen erkennen, ein charakteristisches Merkmal für Uredolager. — Die Infektion schritt sehr rasch fort und hatte bald alle Peplus-Exemplare ergriffen. Am 19. Juli waren sie beinahe sämtlich zu Grunde gegangen (wahrscheinlich infolge der feuchten Wärme des Kastens) ohne Teleutosporen gebildet zu haben.

Die übrigen Versuchspflanzen entwickelten sich normal und blieben vollkommen gesund.

Der Versuch ist nicht einwandfrei, denn man wird sogleich geneigt sein, Fremdinfektion anzunehmen. An diese Möglichkeit dachte ich auch sofort und achtete deshalb vom Tage des ersten Auftretens der Uredo-Lager an vorsichtig auf die in der näheren und weiteren Umgebung des Ortes, wo das Kistchen gestanden, häufig vorkommende E. Peplus. Bis zum 25. Juli konnte ich jedoch nicht die geringste Spur des Pilzes an ihnen wahrnehmen. Ich glaube mit Sicherheit daraus schließen zu dürfen, daß die Infektion im Kistchen von den ausgesäten Teleutosporen ausging.

Dieser Erfolg erklärte mir zugleich das Fehlschlagen zweier Versuche, bei denen das Teleutosporenmaterial (von gleicher Herkunft, wie das oben verwendete) auf die Blätter von 9 verschiedenen Euphorbia-Species aufgelegt wurde. Diese beiden Reihen XI und XII hatte ich am 1. und 17. Mai 1906 eingeleitet. Die Sporen keimten weder auf dem Objektträger, noch auf den Pflanzen, denn eine Infektion blieb aus. Da die E. Peplus im allgemeinen erst Mitte Juni auftritt, so ist anzunehmen, daß die Wintersporen ihres Parasiten nicht schon lange vorher keimen; daher wohl der Mißerfolg.

1) Müller, Wilh., l. c.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsreihe XIII.

Infektionsmaterial: Uredosporen vom Kistchenversuch X. Diese wurden am 23. Juni auf folgende Pflanzen verstäubt:

1.2. E. Peplus	aus Samen	9. E. Cyparissias	aus Rhizomen
3. E. exigua	„ „	10. E. characias	„ Samen
4. E. helioscopia	„ „	11. E. dulcis	„ Rhizomen
5.6. E. stricta	„ „	12. E. Amygdaloides	„ „
7. E. falcata	„ „	13. E. Gerardiana	blühend
8. E. platyphylla	„ „	14. E. Engelmanni	„

6. Juli: In Topf No. 2 sind von 3 Pflanzen zwei infiziert. Es finden sich mehrere Lager am Stengel und 9 solche an Stengelblättern. Ihre Farbe ist blaßorange. Von Topf No. 1 sind von 8 Pflanzen nur 2 spärlich befallen. — 11. Juli: Von No. 1 zeigt auch ein 3. Sämling die gelblichen Pusteln. In No. 2 nimmt die Zahl der Sporenlager zu. Sie befinden sich meist an unteren älteren Blättern. — 19. Juli: Alle Exemplare von Topf 2 sind über und über mit Pusteln bedeckt. Bei Topf 1 ist kein wesentlicher Fortschritt bemerkbar. — Am 3. Aug. treten bei XIII 2 an einigen Stengeln und Blättern schwarzbraune Teleutosporenlager auf, daneben ist noch reichlich Uredo vorhanden. Bei XIII 1 blieben neben 3 pilzbefallenen Pflanzen die 5 übrigen ganz gesund.

Im Verlauf des Versuches starben ab: No. 8, E. platyphylla und No. 12, E. Amygdaloides (beide bis zum 7. Juli). No. 10, E. Characias, war am 3. August gänzlich etioliert. Die anderen Arten aber entwickelten sich normal und blieben gesund.

Resultat der Reihen X—XIII. 1) Die vorliegende Melampsora, ich nannte sie Mel. Euphorbiae Pepli n. f. sp.[1]) bewohnt also nur E. Peplus. — 2) Sie geht nicht auf E. exigua, E. helioscopia, E. stricta, E. falcata, E. platyphylla (?), E. Cyparissias, E. Characias, E. dulcis, E. Amygdaloides (?), E. Gerardiana und E. Engelmanni. — 3) Ob sie wirklich eine Eumelampsora ist, bleibt noch ungewiß, da ich den Kistchenversuch im entscheidenden Moment nicht beobachtete.

4. Infektionsmaterial von Euph. Gerardiana.

Versuchsreihe XIV.

Am 23. Mai 1906 sammelte ich an der Bâtiaz bei Martigny (Wallis) Uredo-Material auf Euph. Gerardiana und infizierte damit 2 Tage später:

1. E. Gerardiana	ausgewachsen	7. E. falcata	Keimlinge
2. E. „	Keimlinge	8. E. Characias	„
3. E. Peplus	„	9. E. helioscopia	blühend
4. E. stricta	„	10. E. „	Keimlinge
5. E. Cyparissias	Sprosse aus Rhizomen	11. E. dulcis	aus Rhizomen
6. E. platyphylla	Keimlinge	12. E. Amygdaloides	„ „

Da die auf den Objektträger verstäubten Sporen am folgenden Tage in relativ großer Zahl gekeimt hatten, hoffte ich nach 12—14 Tagen einen positiven Erfolg feststellen zu können. Am 8. Juni zeigte sich jedoch noch nichts, was auf ein Gelingen der Infektion hätte schließen lassen. Erst am 14. Juni, also 20 Tage nach Einleitung des Versuches,

1) Müller, W., l. c.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zeigte XIV 2 an einem Kotyledo ein Lager. Dieses wuchs dann aus, ohne daß sich ihm am gleichen oder an anderen Keimlinge weitere beigesellt hätten, um sich vom 27. Juni an wieder rückzubilden. — Die blühende E. Gerardiana XIV 1 gedieh nicht recht und starb allmählich ab. No. 4, 6 und 9 nahmen im Verlauf des Versuches etiolierte Formen an, so daß das hier erhaltene negative Resultat nur geringen Wert hat. — Besser glückte

Versuchsreihe XV.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf E. Gerardiana, gesammelt am 18. Juni an der Folaterre bei Branson (Unterwallis). Versuchspflanzen:

1. E. Gerardiana	Keimlinge		8. E. platyphylla	Keimlinge
2. 3. E. „	ausgewachsen		9. E. Peplus	blühende Pfl.
4. E. Cyparissias	aus Rhizomen		10. E. helioscopia	„ „
5. E. procera	Keimlinge		11. E. exigua	Keimlinge
6. E. Amygdaloides	aus Rhizomen		12. E. dulcis	von Reihe I
7. E. falcata	Keimlinge			

Die Reihe wurde am 19. Juni eingeleitet, und die in Wasser ausgelegten Uredosporen keimten über Nacht gut und gleichmäßig. Die Kontrollen ergaben folgendes: 2. Juli. XV 1, ein Keimling, ca. 4 cm hoch, hat an einem Kotyledo zwei große und an den zwei nächst oberen Blättchen 2 kleine Uredo-Lager. XV 2 zeigt an einem nahe dem Vegetationspunkt gelegenen, also ganz jungen Blatt, ein Lager. In Topf XV 7 (E. falcata) sind von 8 Sämlingen (10—15 cm hoch) 4 deutlich infiziert und zwar sowohl Kotyledonen als gewöhnliche Blätter. — 4. Juli: XV 1 zeigt an einem Kotyledo ein neues Lager; zwei der Sämlinge sind abgestorben. XV 2: an der Oberseite eines anderen jungen Blattes erscheint ebenfalls eine Pustel. XV 3 stirbt ab. XV 7: Die vorhandenen meist blattunterseits befindlichen Sporenhäufchen werden größer. — 6. Juli: Es ist ein allgemeiner Fortschritt zu bemerken, hauptsächlich bei No. 2, wo ich an unteren älteren Blättern 5 neue Lager zähle. Ebenso sind von No. 7 von 8 Sämlingen, so viel wenigstens äußerlich sichtbar, jetzt 5 vom Pilz befallen und zwar an Stengeln und Blättern. — Von jetzt an mehrten sich die Lager zusehends sowohl auf E. Gerardiana wie auf E. falcata. Am 14. Juli wurden sie großenteils zu Reihe XVI verwendet. — Mit Ausnahme von XV 9 blieben die übrigen Pflanzen dieser Versuchsreihe pilzfrei.

XV 9, Euph. Peplus zeigte schon am 2. Juli, also am gleichen Tage, an dem ich den Erfolg auf E. Gerardiana und E. falcata feststellte, an einem der 9 im selben Topfe wachsenden Exemplare 5 blaßgelbe Lager. Der Umstand, daß bis zum 23. Juli immer nur diese eine Pflanze Uredo aufwies, die anderen gleichalterigen aber gesund blieben, ferner das Resultat von Reihe XIII und, wie wir sehen werden, auch von Reihe XVI, sprechen deutlich dafür, daß hier eine Fremdinfektion vorliegt; und zwar rührt diese Verunreinigung jedenfalls vom Versuch XIII her, der am 23. Juni im gleichen Raum eingeleitet wurde, wo die Reihe XV (allerdings unter Glasglocken) stand. Da diese Glasglocken, wie ich mich erinnere, an diesem Tage für kurze Zeit abgehoben wurden zur Entfernung des feuchten Fließpapiers, so war eine Infektion durch die wohl in der Zimmerluft vorhandenen Sporen der Mel. Euphorbiae Pepli leicht möglich.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsreihe XVI.

Infektionsmaterial: Uredosporen, die ich von Reihe XV erhielt, wurden am 14. Juli dazu verwendet, um einen Kontrollversuch einzuleiten. Sie wurden mittels des Verstäubers auf folgende Pflanzen verteilt:

1. 2. E. Peplus	Keimlinge	5. E. falcata
3. 4. E. Gerardiana	ausgewachsen	6. E. exigua

Das Sporenmaterial erwies sich als keimfähig. — Die beiden Töpfe XVI 1 und 2, wovon jeder mehrere Sämlinge von E. Peplus enthielt, blieben ganz gesund. — E. falcata XVI 5 wies am 3. Aug. einen schwachen Erfolg auf, der sich bis zum 13. Aug. deutlich mehrte. Die beiden ausgewachsenen E. Gerardianae und auch E. exigua blieben pilzfrei, erstere wahrscheinlich ihres vorgerückten Stadiums wegen.

Aus den Versuchsreihen XIV—XVI läßt sich also folgendes Facit ziehen:

1) Die Uredo auf Euph. Gerardiana befällt außer E. Gerardiana auch E. falcata.

2) Sie geht nicht auf E. Cyparissias. E. procera, E. Amygdaloides, E. platyphylla, E. helioscopia, E. Peplus, E. exigua, E. stricta und E. dulcis. Ich nannte diese biologisch selbständige Form in meiner vorläufigen Mitteilung Mel. Euphorbiae Gerardianae n. sp.

5. Infektionsmaterial von Euph. Cyparissias.

Im Sommer 1905 versuchte ich in 4 aufeinanderfolgenden Versuchsreihen mit Uredo von Euph. Cyparissias in erster Linie diese Pflanze und eventuell auch andere Euphorbia-Arten zu infizieren. Obgleich Zeitpunkt, Infektionsmaterial, Versuchspflanzen und Versuchseinrichtung jedesmal wechselten und die Sporen keimfähig waren, erzielte ich merkwürdigerweise nicht den geringsten Erfolg.

Ich sammelte am 13. Oktober gleichen Jahres in der Nähe von Gampelen (Bern) Teleutosporen des zu untersuchenden Pilzes, die ich zum Teil am 20. April 1906 auf resp. über die Blätter von 10 Versuchspflanzen legte. Auf dem Objektträger waren nach 4 Tagen noch keine Basidiosporen ausgeworfen worden. Der Versuch verlief resultatlos. Ebenso ein am 8. Juni eingeleiteter, obschon ich hier das Teleutosporenmaterial ca. 15 Stunden in den Eiskasten stellte (Minimaltemperatur — 3°). Es gelang mir also noch nicht, die zwischen Dietel und Jacky schwebende Frage, ob Eu- oder Hemimelampsora, zu entscheiden.

Es scheint hier ein ähnlicher Fall vorzuliegen wie bei der Melampsora Euphorbiae Pepli n. f. sp., daß nämlich die Teleutosporen erst sehr spät keimen. Wenn auch die E. Cyparissias schon Ende März auftritt, so datiert doch der erste Uredofund auf dieser Pflanze im Freien vom 25. Juni und in Fischers „Uredineen der Schweiz“ [1]) ist der 5. Juli das früheste Datum des Auftreten dieses Pilzes.

Auch der diesjährige erste Versuch mit Uredosporen, den ich am 26. Juni 1906 einleitete, ergab kein positives Resultat. Anders die

Versuchsreihe XVI.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf Euph. Cyparissias, am 20. Juli 1906 am Strandwald bei Gampelen gesammelt.

1) Fischer, Ed., l. c. p. 509.

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Es wurden folgenden Tages infiziert:

1.2.3.4.5.	E. Cyparissias	verschieden alt	11.	E. Characias	Keimlinge
6.	„ „	Keimlinge	12.	E. dulcis	aus Rhizomen
7.	E. falcata	blühend	13.14.	E. Peplus	Keimlinge
8.	E. platyphylla	„	15.	E. stricta	blühend
9.	E. Gerardiana	„	16.	E. Amygdaloides	aus Rhizomen
10.	E. helioscopia	Keimlinge			

Die Sporen waren keimfähig. — Am 3. August fand ich im Topf No. 6 von 15 Keimlingen 2 befallen, und zwar je an den Kotyledonen und an einem jungen Blättchen. Im ganzen zählte ich 5 Uredo-Lager. — No. 4 wies 1 solches auf. — Vom 3. bis zum 13. August war ich von Bern abwesend. Am 13. August waren alle Euph. Cyparissias-Pflanzen mit Ausnahme von No. 2 deutlich infiziert. Von No. 1 waren alle 3 Sprosse befallen, 2 reichlich, 1 spärlich. Von No. 3 trugen 3 von 4 Sprossen vereinzelte Lager. Ebenso bei Topf No. 4. In Topf No. 5 blieben von 7 Sprossen 5 gesund. Den größten Fortschritt hatte der Pilz bei den Keimlingen von No. 6 gemacht, wo zahlreiche Fruktifikationen zu verzeichnen waren. — Auf die anderen Versuchspflanzen ging der Pilz nicht über.

Erst am 1. Oktober durchmusterte ich die Reihe nochmals genau und fand die Cyparissias-Keimlinge noch immer intensiv befallen. (Auch an den Stengeln traten Uredo-Lager auf.) Doch war im allgemeinen eine Rückbildung zu bemerken. Teleutosporen fand ich noch keine. Die übrigen Euphorbia-Species waren bei normaler Entwickelung gesund geblieben.

Resultat. Auf Euph. Cyparissias wohnt eine Melampsora, die biologisch mit den auf anderen Euphorbia-Arten lebenden Melampsoren nichts gemein hat. Ich trenne sie deshalb als selbständige Form ab unter dem Namen Mel. Euphorbiae Cyparissiae n. f. sp.

6. Infektionsmaterial von Euph. stricta.

Versuchsreihe XVIII.

Am 10. Juli 1906 fand ich an der Straße Flüelen-Brunnen (am Vierwaldstättersee) reichliche Uredolager auf Euph. stricta. Um Zahl und Art der Wirtspflanzen dieser Euph. Melampsora festzustellen, infizierte ich damit am 11. Juli:

1.2.	E. stricta	blühend	13.14.	E. helioscopia
3.4.5.	„ „	Keiml., 24 Tage alt	15.	E. Peplus
6.	E. platyphylla	ausgewachsen	16.17.	E. exigua
7.	„ „	Keimlinge	18.	E. pilosa
8.	E. procera		19.	E. falcata
9.	E. Cyparissias	ausgewachsen	20.	E. Engelmanni
10.	„ „	4 cm	21.	E. Gerardiana
11.	„ „	5 „	22.	E. Amygdaloides
12.	E. Characias	Keimlinge	23.	E. dulcis

Am 23. Juli war bereits ein Erfolg zu bemerken. Die No. 1, 2 und 6 trugen vereinzelte junge Uredo-Lager. Am folgenden Tage waren von Topf No. 1 4 Pflanzen ziemlich regelmäßig infiziert. Die Keimlinge der No. 3, 4 und 5 erschienen pilzfrei, doch etwas kränkelnd. — Am 3. August hatte ich für No. 2 einen bemerkenswerten Fortschritt zu verzeichnen und, was mehr Interesse bietet: von ca. 15 Platyphylla-Keimlingen des Topfes No. 7 waren 3 befallen, allerdings spärlich. — Später wurde nur noch eine Kontrolle vorgenommen, und zwar am 1. Oktober. Ich

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fand die Mehrzahl der besagten E. platyphylla-Pflänzchen stark mit Uredo besetzt, eine Tatsache, die wohl auf sekundärer Infektion (von No. 1, 2 und 6 herrührend) beruht. Die übrigen Pflanzen dieser Reihe erwiesen sich als immun, litten aber ziemlich stark unter Blattläusen.

Ergebnisse der Reihe XVIII. 1. Die Melampsora auf E. stricta hat 2 Wirte: E. stricta und E. platyphylla. Ob einer von beiden bevorzugt wird, wage ich aus diesem einzigen Versuche nicht zu schließen. — 2. Sie geht, soweit ich feststellen konnte, nicht über auf E. procera, E. Cyparissias, E. Characias, E. helioscopia, E. Peplus, E. exigua, E. pilosa, E. falcata, E. Engelmanni, E. Gerardiana, E. Amygdaloides und E. dulcis. — Der als biologisch selbständig dastehende Pilz soll Mel. Euphorbiae strictae n. f. sp.[1]) heißen.

Das Resultat ist keineswegs überraschend, da sich die beiden Wirtspflanzen verwandtschaftlich sehr nahe stehen.

7. Infektionsmaterial von Euph. Amygdaloides.

Am 9. Juni 1905 schickte mir Herr Prof. F. Tripet von Neuenburg eine Anzahl ausgegrabener E. Amygdaloides, die ich zu meinen Versuchen verwenden wollte. Darunter befand sich ein Exemplar, das hauptsächlich an vorjährigen, weniger an diesjährigen Blättern Uredo-Lager trug. Obgleich diese Pflanze sofort abgesondert wurde, war natürlich die ganze Sendung für mich nicht verwendbar, aber ich hatte dafür einen Standort für den mir wichtigen Rostpilz ermittelt, den mir Herr Prof. Tripet durch Mr. Scire in freundlicher Weise zeigen ließ. Ich erlaube mir, den beiden Herren an dieser Stelle meinen besten Dank auszudrücken.

Versuchsreihe XIX.

Uredosporen von Euph. Amygdaloides, gesammelt am 14. Juni 1905 in der Nähe des Rocher de l'Eremitage bei Neuenburg, wurden tags darauf mit dem Verstäuber auf folgende Euphorbien verteilt:

1.2.	E. Cyparissias	9.	E. exigua
3.4.	E. dulcis	10.	E. Esula
5.6.	E. helioscopia	11.	E. Chamaesice
7.	E. Amygdaloides	12.	E. verrucosa
8.	E. Gerardiana		

Am 29. Juni beobachtete ich an No. 7 an einem alten Sproß mehrere Uredo-Lager. Nach 2 Tagen trat ein solches auch an einem zweiten Sproß auf. Nach weiteren 4 Tagen (also am 5. Juli) an einem dritten. Am 10. Juli war die ganze Pflanze stark infiziert und es fand von da an keine Neubildung von Uredo mehr statt.

No. 5 (E. helioscopia) starb im Verlauf des Versuches ab. An No. 6 dagegen bemerkte ich am 11. Juli eine Uredopustel, der sich bis zum 18. Juli zahlreiche neue beigesellten. Doch handelte es sich hier wahrscheinlich um eine Fremdinfektion.

Diese Versuchsreihe ist überhaupt nicht ganz einwandsfrei, da die erkrankte E. Amygdaloides von der Sendung des Herrn Tripet herrührte und vielleicht schon am 9. Juni in der Kiste infiziert worden war. Doch konnte die Infektion gleichwohl nur von der Melampsora auf Euph. Amygdaloides herrühren. Es war mir mehr daran gelegen, festzustellen, ob vielleicht noch andere Euphorbia-Arten befallen würden.

1) Müller, W., l. c.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Leider gelang es mir nicht, Teleutosporen dieses Pilzes zu erlangen, und auch Herbarmaterial, das mir von den Herren Prof. Dr. Hennings und P. Sydow in freundlichster Weise zugeschickt wurde, welches die Melampsora auf E. Amygdaloides von 4 ganz verschiedenen Standorten enthielt, wies keine Wintersporen auf.

Versuchsreihe XX.

Am 26. Juni des folgenden Jahres infizierte ich mit tags vorher am genannten Orte gesammelten Uredosporen:

1. 2.	E. Amygdaloides	aus Rhizomen	9.	E. exigua	Keimlinge
3.	E. dulcis	„ „	10.	E. helioscopia	blühend
4.	E. Gerardiana	blühend	11.	E. Characias	Keimlinge
5. 6.	E. Cyparissias	ausgewachsen	12.	E. Peplus	„
7.	E. falcata	Keimlinge	13.	E. Engelmanni	blühend
8.	E. stricta	„			

Diesmal, und auch im folgenden Versuche waren die E. Amygdaloides absolut zuverlässig, da sie in der Nähe von Twann ausgegraben wurden, wo ich diese Species nie befallen vorfand.

Der Erfolg entsprach nicht meinen Erwartungen. Es entstand nämlich nur ein einziges Uredo-Lager, und zwar erst am 20. Juli (!) (also nach 24-tägiger Inkubationszeit). Dieses befand sich an der Unterseite eines vorjährigen Blattes von No. 1. Am 29. Juli war das erkrankte Blatt abgestorben, ohne daß sich auf ihm oder anderwärts neue Uredopusteln gebildet hätten. — Sämtliche anderen einbezogenen Pflanzen waren durchaus pilzfrei geblieben.

Versuchsreihe XXI.

Sie bildet eine Wiederholung der Reihe XX. Die Uredosporen stammten wiederum von Neuenburg und wurden am 20. Juli, einige Stunden nachdem sie gesammelt worden, verstäubt auf:

1. 2. 3.	E. Amygdaloides	10.	E. stricta	Keimlinge
4. 5.	E. Characias	11.	„ „	blühend
6.	E. Gerardiana	12.	E. helioscopia	
7. 8.	E. dulcis	13. 14.	E. Cyparissias	
9.	E. falcata	15.	E. exigua	

Nach der Infektion wurde eine der 3 Euph. Amygdaloides-Versuchspflanzen, nämlich No. 3, für $1^1/_2$ Tage in den Eiskasten gestellt, die zweite (No. 2) in den Keller und die dritte (No. 1) im Laboratorium bei den anderen Pflanzen belassen.

21. Juli: Der einem beträchtlichen Temperaturwechsel unterworfene Objektträgerversuch (er befand sich über Nacht im Eiskasten) zeigte einige gekeimte Sporen. Auf einem zweiten, der unter einer Glasglocke im Zimmer stand, trat die Keimung erst 1 oder 2 Tage später auf. — 3. August: Bis jetzt läßt kein Anzeichen auf einen Erfolg der Infektion schließen. — Während der akademischen Ferien war ich von Bern abwesend und hatte deswegen nur wenig Gelegenheit zur Beobachtung meiner Versuchsreihen. — 13. August: Im Topf No. 3 waren von 13 Sprossen 5 vorjährige deutlich infiziert. Ich zählte im ganzen 19 Lager, die meist auf der Blattoberseite saßen. — E. Amygdaloides (No. 2) war stark und gleichmäßig befallen, während No. 1 noch ganz gesund erschien. — 26. August: No. 1, 2 und 3 trugen alle reichliche, regelmäßig verteilte Sporenlager. Es ist möglich, daß No. 1 erst sekundär, durch Sporen von Topf 1 oder 2 infiziert wurde. — Am 1. Oktober

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

hatte die Uredofruktifikation ihren Höhepunkt bereits überschritten; die Lager hatten ihr frisches Aussehen verloren. Einige pilzbefallene Blätter waren schon gelb geworden, andere abgefallen.

Von den übrigen Versuchspflanzen starb E. exigua (No. 15) in der Zeit zwischen dem 13. August und dem 1. Oktober ab, die anderen Species, ich erwähne speziell E. Characias, weil sie der E. Amygdaloides sehr nahe verwandt ist, blieben bei meist normaler Entwickelung gesund.

Resultat: 1. Die auf Euph. Amygdaloides lebende Melampsora, die bis jetzt auch zum Typus der Mel. Helioscopiae (Pers.) gerechnet wurde, ist ebenfalls biologisch selbständig und befiel bei meinen Versuchen nur diese Species. 2. Es wurden von ihr nicht infiziert: E. Characias, E. Gerardiana, E. dulcis, E. falcata, E. stricta, E. helioscopia, E. Cyparissias, E. exigua, E. verrucosa, E. Chamaerice, E. Esula, E. Peplus und E. Engelmanni. 3. Als selbständige biologische Art nenne ich sie Mel. Euphorbiae Amygdaloides n. f. sp. 4. Sie scheint im Verhältnis zu den anderen von mir untersuchten Euphorbia-Melampsoren eine etwas längere Inkubationszeit zu besitzen. 5. Der Umstand, daß das Sporenmaterial im Eiskasten besser und früher keimte und die abgekühlten E. Amygdaloides-Pflanzen eher und reichlicher Uredo trugen als die keinem Temperaturwechsel unterworfenen, bezeugt die Richtigkeit von Erikssons Behauptung, Abkühlung sei für Sporenkeimung und Infektion günstig.

b) Versuche mit Melampsora Euphorbiae dulcis Otth.

Dietel[1]) fand also auch für diese Form das Aecidium resp. Caeoma und sagt darüber: „Man findet es auf denselben Pflanzen, welche im Sommer und Herbst die beiden anderen Sporengenerationen tragen, . . . Die Aecidien finden sich vorwiegend auf der Unterseite der Blätter, brechen aber mitunter auch auf der Oberseite derselben und am Stengel hervor."

Mir ist es, wie auch das auf E. Cyparissias, trotz großer Aufmerksamkeit, nicht zu Gesicht gekommen.

Der Mel. Euphorbiae dulcis werden, gestützt auf morphologische Uebereinstimmungen, zugerechnet die Formen auf E. Carniolica Jcq. durch Magnus[2]) und auf E. salicifolia (Höchst) in Saccardo's Sylloge.

Experimentell ist aber die Selbständigkeit der Mel. Euphorbiae dulcis noch nicht nachgewiesen. Unsere Versuche bestätigen dieselbe. Leider standen mir jedoch E. carniolica und salicifolia nicht zur Verfügung, so daß die Zugehörigkeit der auf diesen Arten lebenden Melampsoren nicht erwiesen werden konnte.

Eigene Versuche.

Um das biologische Verhalten der Mel. Euphorbiae dulcis festzustellen, legte ich am 27. April und 29. Mai (Reihen XXII und XXIII) Teleutosporenmaterial, das von Herrn W. Rytz, cand. phil. am 4. September 1905 im Wylerhölzli (bei Bern), dem Otthschen Originalstandort, für mich gesammelt wurde, auf 10 Euphorbia-Arten aus. Für den

1) Dietel, P., Ueber die Aecidien von Mel. Euphorbiae dulcis Otth. (l. c.)
2) Magnus, P., l. c.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

2. Versuch setzte ich die Teleutosporen ca. 20 Stunden niederer Temperatur (Minimum —3° C) aus. Trotzdem das Material keimfähig war, d. h. Basidiosporen gebildet wurden, konnte ich bei keiner der beiden Reihen ein positives Resultat konstatieren.

Ebensowenig glückte ein am 29. Mai eingeleiteter Versuch mit Uredosporen.

Versuchsreihe XXIV.

Infektionsmaterial: Uredo von Euph. dulcis stammend, am 19. Juli 1906 im Wylerhölzli gesammelt. Die Sporen wurden am gleichen Tage auf folgende Versuchspflanzen zerstäubt:

1. 2. 3. E. dulcis	9. E. falcata	13. E. Gerardiana
4. 5. E. Amygdaloides	10. E. exigua	14. E. helioscopia
6. E. Cyparissias	11. E. spinosa	15. E. procera
7. 8. E. Peplus	12. E. palustris	16. E. Lathyris.

Am 3. August fand ich auf E. dulcis (2) mehrere bereits rückgebildete und ein noch frisches Lager. Daneben traten zahlreiche braune Flecken auf, die, wie sich herausstellte nicht mit dem Rostpilz in Zusammenhang standen. Etwas überrascht war ich, auf E. Lathyris (16) blattober- und -unterseits vereinzelte Uredopusteln zu finden nebst ähnlichen dunkeln Flecken. — Bis zum 9. August hatte sich die Uredo ordentlich vermehrt. Sie wurde großenteils zur mikroskopischen Untersuchung verwendet. — 13. August: Euph. dulcis (1) ist ebenfalls infiziert, allein nur schwach. An 3 von 5 Sprossen war je ein deutliches Lager sichtbar.

Resultat: Für die Mel. Euphorbiae dulcis Otth sind als Nährpflanzen mit Sicherheit nachgewiesen: E. dulcis und E. Lathyris. — Es wurden dagegen von diesem Pilz nicht befallen: E. Amygdaloides, E. Cyparissias, E. Peplus, E. falcata, E. exigua, E. spinosa, E. palustris, E. Gerardiana, E. helioscopia und E. procera.

c) Beobachtungen im Freien.

Bei meinen Exkursionen verfehlte ich nicht, jeweilen auf die Vergesellschaftungen der pilzbefallenen Euphorbien zu achten, um auch daraus Schlüsse auf die Spezialisation zu ziehen. Diese Beobachtungen stimmen alle mit meinen Resultaten überein. Ich will die wichtigsten hier kurz mitteilen.

Am 30. März 1906 fand ich in einem Rebberg bei Gampelen (Bern) viel Uredo-behaftete Euphorbia helioscopia. In 20—30 m Entfernung standen zahlreiche E. Cyparissias-Pflanzen, die den ganzen Sommer durch gesund blieben. — Eine andere Beobachtung übermittelte mir Herr Prof. Ed. Fischer in freundlichster Weise. Er sammelte für mich am 9. September 1905 bei Gerzensee (Bern) mit Uredo besetzte Früchte von E. Peplus und bemerkte dazu: „Unweit davon standen auch stark infizierte E. helioscopia. Doch waren auffälligerweise andere unmittelbar neben diesen stehende E. Peplus, soweit ich es feststellen konnte, ohne Uredo.“ Dasselbe beobachtete ich mehrfach bei Bützberg, Gampelen u. a. O.

In einem Walde nordöstlich Kapf bei Twann (Bielersee) kam massenhaft Uredo auf E. dulcis vor, dagegen konnte ich auf der dort ziemlich häufigen E. Amygdaloides keine Spur der Melampsora finden. Am Rocher de l'Eremitage (Neuenburg) waren diese beiden Arten pilz-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

behaftet, doch lagen hier oft die gleichen Verhältnisse vor, wie ich sie oben für Mel. Euphorbiae Pepli und Mel. Helioscopiae s. str. angegeben habe.

Auf der im Wylerhölzli, einem Verbreitungsbezirk der Mel. Euphorbiae dulcis häufigen E. Cyparissias entdeckte ich niemals einen Rostpilz.

Am 25. Juni 1906 bemerkte ich inmitten meines Standortes für Mel. Euphorbiae Cyparissiae (bei Gampelen) eine Euph. palustris, die am 20. Juli und auch später noch ganz gesund war. — Bei Marin (Kanton Neuenburg) beobachtete ich ebenfalls am 20. Juli neben stark befallenen E. helioscopia ganz rostfreie E. exigua.

Leider fand ich die beiden einer Euph. Melampsora gemeinsamen Nährpflanzen, also E. Gerardiana und E. falcata, oder E. stricta und E. platyphyllos nie vergesellschaftet vor, so daß ich meine bezüglichen Versuchsresultate nicht mit Belegen aus der Natur stützen kann.

Zusammenfassung der Resultate.

Meine Versuche haben zu folgenden Ergebnissen geführt:

I. Die bis jetzt als Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter bezeichnete Melampsora stellt einen Sammelbegriff dar, der vorläufig in 7 biologisch voneinander verschiedene Schwesterspecies zerfällt, von denen nach meinen Untersuchungen keine auf mehr als 2 Wirtspflanzen überging. — Die 7 Formae speciales wurden der Einfachheit wegen nach der Nährpflanze benannt, von der das erste Versuchsmaterial herstammte. Sie sollen hier nochmals aufgeführt werden.

1. Mel. Helioscopiae s. str. nur auf E. helioscopia vorkommend.
2. „ Euphorbiae exiguae, einzig E. exigua befallend.
3. „ „ Pepli, mit der alleinigen Nährpflanze E. Peplus.
4. „ „ Gerardianae, bewohnt außer E. Gerardiana auch E. falcata.
5. „ „ Cyparissiae, hat als einzigen Wirt E. Cyparissias.
6. „ „ strictae auf E. stricta und E. platyphyllos.
7. „ „ Amygdaloides, infizierte in meinen Versuchen nur E. Amygdaloides.

Mel. Euphorbiae exiguae ist eine Eumelampsora. Für die anderen Spezialformen ist der Entwickelungsgang aus meinen Versuchen nicht genau ersichtlich.

II. Als weitere Nährpflanze für die Mel. Euphorbiae dulcis Otth wurde neben E. dulcis auch E. Lathyris ermittelt.

Der Entwickelungsgang: Was den Entwickelungsgang der Euphorbien-Melampsoren anbetrifft, so ist durch Dietel[1, 2]) der Nachweis geleistet worden, daß sowohl die Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter, d. h. die jetzt durch mich spezialisierte Form Melampsora Euphorbiae Cyparissiae, als auch die Mel. Euphorbiae dulcis Otth Eumelampsoren sind. Es werden also vom Pilz innerhalb einer Vegetationsperiode sämtliche 5 Sporenformen gebildet. Jacky[3]) hält dem widersprechend, die auf E. Cyparissias lebende Melampsora für eine Hemiform (Basidio-, Uredo-, Teleutosporen).

Meine Versuche mit Teleutosporen sind leider nicht dazu angetan, diese Frage definitiv zu entscheiden. Einzig Reihe VIII gab einen Er-

1, 2) Dietel, P., l. c.
3) Jacky, E., l. c.

Generated on 2019-09-21 17:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

folg, indem ich auf E. exigua aus dem Basidiosporenmycel ein Caeoma erhielt, dem höchst wahrscheinlich auch Pykniden vorangingen, die aber meiner Beobachtung entgingen. Dies Resultat entspricht also demjenigen Dietels. — Es ist jedoch damit nicht ausgeschlossen, daß bei anderen Euphorbien-Melampsoren die Caeoma-Generation vielleicht gar nicht oder nur selten zur Ausbildung gelangt, was eventuell mit Standorts- oder Klimadifferenzen im Zusammenhang stehen könnte. Bei der Mel. Euphorbiae Pepli (Reihe X) beispielsweise entstand höchst wahrscheinlich direkt Uredo beziehungsweise mit vorangehenden Pykniden, denn der Versuch blieb bloß 17 Tage unkontrolliert, während welcher Zeit sich meinen Erfahrungen nach kaum Caeoma- und daraus junge Uredo-Lager ausbilden konnten. Die zuerst am 20. Juni beobachteten noch ganz kleinen Pusteln erwiesen sich aber als Uredo.

Das sehr frühzeitige und sofort außerordentlich reichliche Auftreten von Uredo auf der E. helioscopia, die vielen, oft dicht mit Sporenlagern besetzten Früchte und das Fehlschlagen der Versuche mit Teleutosporenmaterial drängten mir die Frage auf, ob nicht vielleicht das Pilzmycel in die Samen gelange und die jungen Pflanzen schon im Embryonalzustand infiziere, um dann mit dem Keimling emporzuwachsen. Ich untersuchte deshalb solche Uredo-behaftete Früchte mikroskopisch auf Quer- und Längsschnitten, sah aber bald, daß die Hyphen nur bis zu der derben 50—100 μ dicken Samenschale gelangen, deren gebräunte, dickwandige und engverbundene Zellen ein weiteres Eindringen verhindern. — Ebenso bewiesen Aussaaten von stark pilzbefallenen Früchten von E. helioscopia und E. Peplus, aus denen vollkommen gesunde Pflanzen hervorgingen, daß eine solche Ueberwinterung hier nicht vorkommt.

Der Zeitpunkt der Teleutosporenkeimung ist für die verschiedenen Euphorbien-Melampsoren wohl kein einheitlicher, was ja auf der Hand liegt, da die Entwickelung des Pilzes sich nach derjenigen seiner Nährpflanzen richten muß. Meine Beobachtungen machen es wahrscheinlich, daß die Bildung der Basidiosporen im allgemeinen dann erfolgt, nachdem die Wirtspflanze gekeimt hat oder sich noch in Jugendstadien vorfindet, bei perennierenden Pflanzen, wenn neue Sprosse gebildet werden. Es kommen aber auch Ausnahmen vor. Als solche halte ich die Formen auf E. Cyparissias und E. Amygdaloides, welche beiden Pflanzen schon im frühen Frühling vorhanden sind (letztere überwintert) und dennoch erst in der zweiten Hälfte Juni Uredo tragen.

Ueber die Dauer der Inkubationszeit der Euphorbia-Melampsoren geben meine Versuche folgenden Aufschluß:

Sie beträgt für das aus den Basidiosporen hervorgegangene Mycel der Mel. Euphorbiae exiguae höchstens 21 Tage. Für die übrigen biologischen Arten ist sie mir, infolge Mißlingens meiner bezüglichen Versuche, nicht bekannt. Für Mel. Euphorbiae Cyparissiae soll sie nach Jacky 27 Tage dauern.

Der Zeitraum zwischen der Infektion mit Uredosporen und dem Sichtbarwerden des Erfolges beträgt 10—24 Tage und ist jedenfalls ziemlich abhängig von der Temperatur. Im allgemeinen sind es 12—14 Tage, wie bei den meisten Uredineen. Die längste Inkubationsdauer wies bei meinen Uredoversuchen die Mel. Euphorbiae Amygdaloides auf, wo sie 20 Tage übersteigt, die kürzeste die Mel. Helioscopiae s. str. mit 10 und 11 Tagen.

Individuelle Prädispositionen: Bei meinen Versuchen konnte

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ich die Beobachtung machen, daß fast nie sämtliche Versuchsexemplare einer Nährpflanze von der ihr zugehörigen Melampsora befallen wurden oder anderenfalls die einen mehr, die anderen weniger. Besonders frappant war dies bei einem Versuch mit Uredo von Mel. Euphorbia Pepli, wo von 8 gleichalterigen, normalen, aus Samen gezogenen E. Peplus bloß 3 den Pilz aufwiesen, trotzdem ich sie alle ganz gleichmäßig mittelst des Verstäubers mit Sporen besät hatte. Aehnliches kam bei anderen Reihen vor, und im Sommer 1905 waren meine Versuche, mit Ausnahme eines einzigen, erfolglos. Daraus geht mit Sicherheit hervor, daß die Einzelpflanzen einer Species für die sie bewohnende Melampsora verschiedene Empfänglichkeit aufweisen, oder daß individuelle Prädispositionen vorliegen müssen, welche die Entwickelung des Pilzes begünstigen oder ihr wenigstens nicht hemmend im Wege stehen Wir haben deshalb mit immunen und nicht immunen Pflanzen zu rechnen. Bei den letzteren weisen ihrerseits die verschiedenen Pflanzenteile auch wieder eine ungleiche Empfänglichkeit für den Parasiten auf. Die meisten Sporenlager werden auf den Blättern gebildet und zwar sowohl ober- als unterseits. Aber auch der Stengel wird befallen und dient den verschiedenen Fruktifikationen als Unterlage. Es ist dies besonders bei den schmalblätterigen Euphorbien der Fall, kommt jedoch auch bei anderen vor, wenn die Infektion eine ganz intensive ist; ja es werden oft sogar die Früchte vom Pilz befallen (E. helioscopia und E. Peplus).

Interessant ist die Tatsache, daß bei allen Versuchen, bei denen ich Keimlinge verwendete, fast immer zuerst die Kotyledonen Lager aufwiesen und erst nachher die jüngern Blättchen, obschon diese zur Zeit der Infektion vorhanden waren. Ferner bemerkte ich in vielen Fällen ein allmähliches Emporsteigen der Infektion von den unteren älteren Blättern zu den jüngeren. Besonders auffällig war dies bei der Mel. Heliscopiae s. str. zu beobachten.

Es kann hier die Frage aufgeworfen werden, ob trotz dieser individuellen Prädispositionen meinen Versuchsergebnissen wirklich Zuverlässigkeit zukommt. Was dies anbetrifft, so ist, gute Isolation der infizierten Pflanzen vorausgesetzt, positiven Resultaten natürlich volles Vertrauen entgegen zu bringen. Ueber negative Erfolge sagt Ed. Fischer in seinen „Uredineen“ [1]) folgendes: „.... es kann nicht genug hervorgehoben werden, daß negative Ergebnisse auf viel zahlreichere Versuche gestützt sein müssen als positive .... Negativen Ergebnissen aber ganz die Beweiskraft abzusprechen, wäre doch zu weit gegangen; namentlich da, wo wiederholt mit 2 Uredineen auf 2 Nährpflanzen reziproke Versuche gleichzeitig und unter möglichst gleichen Bedingungen ausgeführt worden sind und verschiedenes Verhalten der beiden Pilze dargetan haben, darf wohl an der Nichtidentität der letzteren kaum gezweifelt werden, besonders wenn man weiß, wie sicher und zuverlässig im allgemeinen bei den Uredineen die Infektionsversuche gelingen, sobald die geeignete Nährpflanze vorliegt.“ Letzteres trifft nun eben bei den Melampsoren auf Euphorbia nicht unbedingt zu, aber ich habe doch bei meinen Versuchen vielfach die gleichen Euphorbia-Species mit verschiedenartigem Infektionsmaterial zu impfen versucht, so daß also mehrfache Umkehrungen eines Experimentes vorkamen. Infolgedessen kommt meinen negativen Resultaten, wenn auch nicht eine absolute Sicherheit, so doch große Beweiskraft zu.

(Schluß folgt.)

1) Fischer, Ed., l. c. p. 55.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Chlorose der Reben.

[Arbeiten der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Von Dr. **Emil Molz.**

Mit 4 Tafeln und 8 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Die gefährlichsten Schädlinge des Weinbaues, es seien nur genannt Peronospora, Black Rot, Oidium und Phylloxera, sind erst in neuerer Zeit aus anderen Ländern in Europa eingeschleppt worden. Es gibt aber auch einheimische Krankheiten, die bei größerer Ausbreitung im stande sind, sehr tiefgreifende Schädigungen in unseren Rebkulturen hervorzurufen. Zu diesen letzteren gehört die Chlorose. Diese ist wohl bei uns schon so alt, wie die Rebe selbst. Doch wie bei vielen Pflanzenkrankheiten, so hat man auch dieser Erscheinung erst in ganz neuerer Zeit eine größere Beachtung geschenkt, nachdem man namentlich in Frankreich die unangenehme Erfahrung gemacht hatte, daß die in Rücksicht der Reblauskalamität angepflanzten „Amerikaner" in unseren Böden und bei unseren klimatischen Verhältnissen sehr stark zur Chlorose neigen und infolge dieser Eigentümlichkeit häufig den Erfolg großer Anpflanzungen in Frage stellten oder gänzlich illusorisch machten. Es haben sich deshalb mit der Chlorosefrage auch vorwiegend die französischen Gelehrten und Praktiker beschäftigt, während die diesbezügliche Literatur in Deutschland sich im wesentlichen auf einige kürzere oder längere Notizen in wissenschaftlichen und fachlichen Zeitschriften beschränkt.

Das stete und unaufhaltsame Vordringen der Reblaus in unseren deutschen Weingauen trotz der so scharfen Gegenmaßnahmen führt nolens volens zu der Ueberzeugung, daß auch wir über kurz oder lang mit dem seither üblichen Verfahren nicht mehr auskommen werden. Trotzalledem läßt uns die jetzt noch in den meisten deutschen Weinländern geübte Bekämpfungsmethode Zeit gewinnen zu einer sehr notwendigen einschlägigen Versuchstätigkeit, um auf diesem Wege unter Zugrundelegung der auswärtigen Erfahrungen die zweckmäßigsten zukünftigen Maßnahmen kennen zu lernen. Denn was dieserhalb für unsere Nachbarn gilt, das gilt noch lange nicht für uns. Der verschiedenartige Boden, noch weit mehr aber die sehr abweichenden klimatischen Verhältnisse schaffen für die Biologie der Reblaus und dann auch für das Verhalten der widerstandsfähigen Amerikaner Reben und deren Veredlungen bei uns so hervorstechende Abweichungen gegenüber den wärmeren Nachbarländern, daß es unsere Aufgabe sein muß, alle Einzelfaktoren der in anderen Ländern geübten Kampfesweise in Ursache und Wirkung zu prüfen und klarzulegen. Aller Voraussicht nach wird ja auch für uns die Verwendung der Veredlungen auf amerikanischer Unterlage eine große wirtschaftliche Bedeutung erlangen, und damit rückt auch die Chlorosefrage in Deutschland in ein Stadium erhöhten Interesses. Doch abgesehen davon, auch bei unseren einheimischen, auf eignen Füßen stockenden Reben tritt in manchen Weingegenden, wie beispielsweise in Rheinhessen, die gelbsüchtige Erkrankung der Reb-

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stöcke oft sehr empfindlich zu Tage, so daß eine Aufhellung der ursächlichen Verhältnisse hier sehr geboten erschien.

Aus den besagten Gründen habe ich die Chlorosefrage zum Gegenstand einer wissenschaftlichen Untersuchung gemacht, wobei es mir vor allen Dingen darauf ankam, die Krankheitserscheinungen in ihren wahren Ursachen zu erkennen und auf diese Erkenntnis eine aussichtsvolle Therapeutik zu gründen.

Die Beantwortung der Fragen über die die Chlorose bedingenden Ursachen hat neben den Laboratoriumsversuchen auch noch eingehende Untersuchungen an Ort und Stelle in chlorosierten Weinbergen nötig gemacht. Doch gestatten die erlangten Versuchsresultate, soweit sie sich auf die tiefere Kausalität der beregten Krankheitserscheinung beziehen, noch kein durchaus einwandfreies Urteil; es bleiben da immer noch einige Punkte, die einer weiteren experimentellen Bearbeitung bedürfen. So kann also auch die vorliegende Arbeit nur als ein Beitrag zur Lösung der Frage über die Ursachen der Chlorose und deren Heilung gelten.

Die Untersuchungen wurden in der pflanzenpathologischen Versuchsstation der Kgl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. ausgeführt, und möchte ich nicht unterlassen, dem Vorstande dieser Station, Herrn Dr. Lüstner, für seine vielseitige Anregung und Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen. In gleicher Weise danke ich Herrn Prof. Dr. Edler, Jena, sowie Herrn Geheimrat Prof. Dr. Wortmann, Geisenheim für die mir freundlichst erteilten Ratschläge.

I. Allgemeine Kennzeichen der Chlorose der Reben.

Mit dem Namen „Chlorose“ bezeichnet man einen krankhaften Zustand der Reben, wie der Pflanzen überhaupt, der sich vornehmlich in einer Verfärbung des Laubes und der Triebe kennzeichnet. Diese Teile zeigen eine blaßgrüne, gelblichgrüne, gelbliche bis gelblichweiße Farbe. Man bezeichnet diesen Krankheitszustand auch als Bleichsucht, Gelbsucht oder Ikterus. Dieses Vergilben kann vorübergehend und nur sehr schwach sein, oder es ist dauernd und stark ausgeprägt. Zwischen beiden Extremen findet man Uebergänge. Doch zeigt sich das gelbliche Kolorit nicht gleichmäßig an allen Blättern und Zweigen des Stockes, sondern es sind einige Partieen stärker chlorosiert als andere, vorwiegend aber die oberen Teile der Triebe. Zumeist bewahren die Blattrippen und die direkt anschließenden Blattpartieen noch lange Zeit die normal grüne Farbe, während die Interkostalfelder mehr und mehr vergilben, ja sogar weißlich und durchsichtig werden. Allmählich bräunt sich das Blattgewebe am Rande und rollt sich etwas ein, und die abgetöteten Partieen schreiten interkostal weiter und führen nach und nach zu einer vollständigen Vertrocknung des Blattes.

Ein an der Chlorose erkrankter Rebstock wächst weiter, aber etwas langsamer als ein gesunder Stock; die neu erzeugten Blattorgane bleiben kleiner und sind gelb, die Internodien werden kürzer. Wiederholt sich der chlorotische Prozeß an einem Stocke mehrere Jahre hintereinander, so verschärfen sich die pathologischen Erscheinungen. Während anfänglich der Stock im Frühjahr noch gesund erscheint und mit grüner Farbe austreibt, zeigen jetzt schon die ganz kleinen Triebe das chlorotische Phänomen, die Blättchen bleiben sehr klein, haben eine blaßgelbliche

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Farbe mit rötlicher Anhauchung, die auf die Bildung von Anthocyan zurückzuführen ist. Die Triebe sind dünn und schwach, die Internodien werden sehr kurz, und es entstehen aus der Hauptachse zahlreiche Seitentriebe, die dem Stock ein strauchartiges Aussehen verleihen (vergl. die graphische Darstellung Fig. 2). Man bezeichnet eine derartig ausgesprochene Chlorose als „Cottis“. Diese stellt also den letzten Grad der chlorotischen Erkrankung dar und geht dem gänzlichen Absterben des Stockes voraus.

Gewöhnlich treten die ersten Anzeichen der Chlorose erst Ende Mai, besonders aber im Juni und Juli, auf. Die Blüte verläuft bei schwach

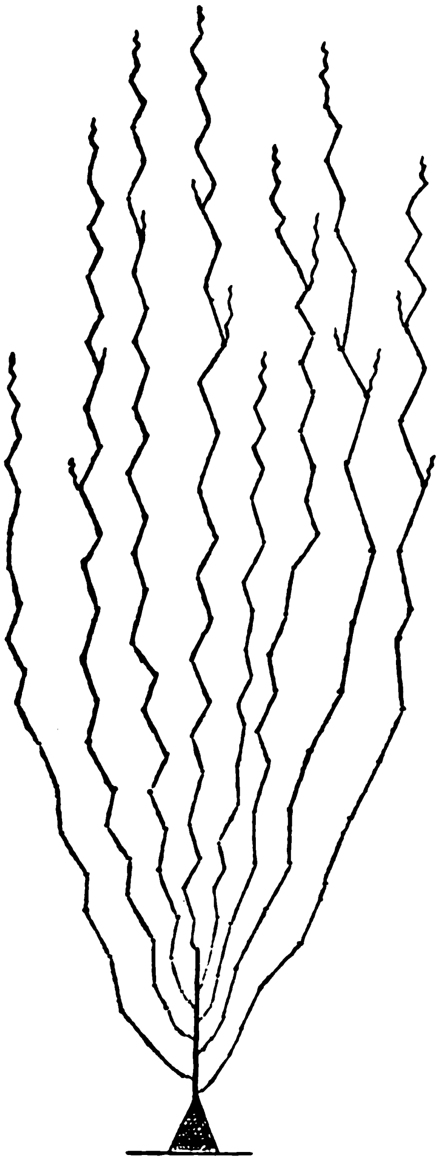


Fig. 1.

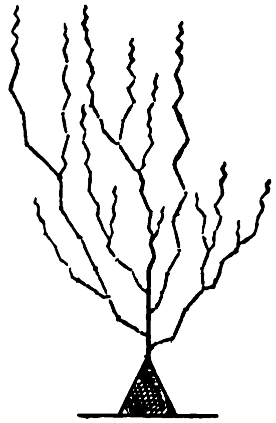


Fig. 2.

Graphische Darstellung des Wuchstypes eines gesunden (Fig. 1) und eines chlorotischen (Fig. 2) Sylvanerstockes.

erkrankten Stöcken im ersten Jahre noch normal, bei wiederholtem Auftreten der Gelbsucht aber fallen die Blütchen entweder ganz ab, oder aber die Beeren rieseln später stark aus, und ihre Reife ist sehr verzögert. Bei fortgeschrittener Krankheit kommt es überhaupt nicht mehr zur Bildung von Gescheinen.

Die äußeren Merkmale der Chlorose unterliegen je nach den Ursachen, die sie hervorrufen, mancherlei Variationen, und wir werden deshalb verschiedentlich auf diesen Punkt zurückkommen müssen.

Die mikroskopische Untersuchung der chlorotischen Blätter zeigt, daß die Chloroplasten eine blaßgrüne bis gelbliche Farbe angenommen haben, ihre Konturen sind wenig deutlich und häufig sind sie zu einem unförmigen Klumpen verschmolzen. Wieder andere Zellen enthalten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kleine, ölige Tröpfchen, die nach Roux[1]) als Produkte einer fettigen Entartung der Chloroleuciten aufzufassen sind. Die Stärkebildung ist in den stärker chlorotischen Blättern vollkommen sistiert, die Einwirkung von Jod-Jodkalium bleibt deshalb fast ohne Reaktion.

Eine Untersuchung des einjährigen Holzes chlorotischer Stöcke im Winter zeigt, daß der größte Teil desselben infolge mangelnder Reife abgestorben und vertrocknet ist. Im gesunden Teil findet man Stärkeablagerungen nur in den Markstrahlen, auch etwas im Bastparenchym; der Holzteil ist vollkommen frei davon, während bei den gesunden Stöcken auch hier reichlich Stärke vorhanden ist.

Wenn wir unser Augenmerk dem Wurzelwerk der bleichsüchtigen Stöcke zuwenden, so finden wir, daß dieses sehr schwach entwickelt ist. Die weißlichen Wurzelspitzen fehlen fast gänzlich, und häufig findet man eine weit fortgeschrittene Fäulnis des gesamten Wurzelkörpers. Die Richtung der Wurzeln verläuft in stark gekrümmten Bahnen, ihre Verzweigung ist sehr mangelhaft.

Das histologische Studium der Wurzeln chlorotischer Reben hat auf Grund meiner Beobachtungen und zahlreicher von mir vorgenommener Messungen (siehe die diesbezügl. Tabelle p. 91 d. Sep.) zu dem Ergebnis geführt, daß das Rindenparenchym schwächer entwickelt ist als bei den widerstandsfähigen Stöcken[2]). Der Holzkörper ist dagegen bei ersteren von größerem Durchmesser als bei letzteren. Die Gesamtzahl der Markstrahlen ist in den kranken Stöcken reduziert, namentlich ist die Anzahl der primären Markstrahlen relativ sehr klein, dafür deren Breite, namentlich in der kambialen Region, beträchtlicher als bei gesunden Stöcken. Besonders stark hervortretend ist aber die geringe Entwickelung des zentralen Markparenchyms in den Wurzeln chlorosierter Stöcke, was durch die Untersuchungen von Cazeaux-Cazalet[3]) bestätigt wird. Dieser Forscher fand auf Grund seiner Beobachtungen außerdem in den Wurzeln chlorotischer Reben die Markstrahlen reduziert, was ich nur für deren Anzahl, aber nicht für deren Größe zutreffend fand. Nach Roux[4]) scheint die Bastzone in den Wurzeln der erkrankten Reben einer Entwickelungsverzögerung zu unterliegen, eine Beobachtung, die ich bei dem mir zu Grunde gelegenen Material nicht verwirklicht fand. Ueberhaupt unterliegen die angeführten Merkmale großen Schwankungen und dürfen keineswegs als überall scharf ausgesprochen angesehen werden.

Das Rindenparenchym, die Markstrahlen und das Markparenchym sind arm an Reservestoffen. Schon der Augenschein eines mikroskopischen Schnittes läßt dies für die Stärke klar erkennen. Deutlicher noch wird dieser Befund bei Anwendung der bekannten Jodreaktion. Dagegen trifft man bei den gesunden Stöcken in diesen Gewebepartieen einen großen Reichtum an abgelagerter Stärke. Das Rindenparenchym zeigt bei den Wurzeln chlorotischer Stöcke häufig größere Komplexe degene-

---

1) Roux, J., Traité des rapports des plantes avec le sol et de la chlorose végétale. Paris 1900. p. 300.

2) Roux (l. c. p. 331) erwähnt eine Beobachtung aus den Kreisen praktischer Winzer, die diese Tatsache bestätigt. Er sagt: „Les viticulteurs ont remarqué aussi que les racines de vignes non chlorotiques sont plus molles et plus charnues, lorsqu'on les pince, que celles des pieds chlorotiques, ce qui prouve l'abondance du tissu conjonctif dans les sujets non malades."

3) Cazeaux-Cazalet, Note sur les causes de la chlorose de la vigne et sur les moyens de prévenir et de traiter cette affection, Bordeaux 1892; cit. n. Roux, l. c. p. 332.

4) Roux, l. c. p. 332.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rierter, zum Teil infolge von Fäulnisprozessen abgestorbener Zellpartieen, in deren peripheren Teilen größere Mengen von Stärke in den Zellen abgelagert sind (vergl. Taf. III, Fig. 1). Die Zellen der Markstrahlen der Wurzeln chlorotischer Reben führen häufig Raphidenbündel in großer Zahl; diese fehlen zwar auch bei gesunden Wurzeln nicht, doch erschien mir ihr Vorkommen bei ersteren zahlreicher; so fand ich beispielsweise in einem Markstrahl einer 2,8 mm dicken Wurzel eines chlorotischen Stockes 28 solcher Bündel.

II. Ueber die Aetiologie und Therapeutik der Chlorose.

Zahlreich sind die Ursachen, welche im stande sind, die Chlorose hervorzubringen, noch zahlreicher sind die Theorieen, die als Erklärungsversuche des ikterischen Prozesses aufgestellt wurden. Im Nachstehenden wollen wir uns aber nur mit denjenigen befassen, denen eine mehr oder weniger wissenschaftliche Begründung zur Seite steht.

1. Die Chlorose infolge Mangels an Eisen.

Der französische Chemiker Eusèbe Gris hat in den Jahren 1843[1]) und 1844[2]) darauf aufmerksam gemacht, daß chlorotische Pflanzen ergrünen, sobald man sie durch die Wurzeln verdünnte Lösungen eines Eisensalzes aufsaugen läßt. Diese Versuchsresultate wurden im Jahre 1857 durch seinen Sohn Arthur Gris[3]) bestätigt und vervollkommnet.

In Deutschland war es besonders Sachs[4]), der im Jahre 1859 auf die Bedeutung des Eisens für das Ergrünen der Pflanzen aufmerksam machte und die therapeutische Behandlung der Chlorose der Gartengewächse mit Eisensalzen empfahl[5]).

Für die praktische Verwertung der Eisendüngung ist es nach diesem Forscher von großer Bedeutung, daß die Eisensalze möglichst früh dem Boden einverleibt werden, da ein baldiges Ergrünen chlorotischer Blätter nur dann eintritt, wenn sie noch in der Entwickelung begriffen sind. Manchmal kommt es aber auch vor, daß noch ältere, bereits ausgewachsene chlorotische Blätter bei Zufuhr von Eisen wieder ergrünen, doch der Erfolg ist unsicher.

Von den praktischen Versuchen des erwähnten Forschers seien einige hier angeführt[6]). Stark beschnittene Gehölze zeigten gegen August hin an den neugebildeten Trieben weißliche Blätter, eine Erscheinung, die darauf zurückzuführen sei, daß bei dem raschen Wachstum dieser Organe die Eisenzufuhr eine ungenügende gewesen sei. Nachdem man um die Gehölze herum in Gruben 1—5 kg Eisensulfat ausgestreut und dieses durch Zufuhr von großen Mengen von Wasser gelöst hatte, trat bei niedrigen Holzpflanzen nach 3—6 Tagen, bei anderen nach 8—14 Tagen ein vollkommenes Ergrünen ein. Bei Bäumen dauerte das Sichtbarwerden der Wirkung des Eisensalzes viel länger, oder es blieb ganz aus.

Beweiskräftiger ist ein zweiter Versuch. An 20-jährigen Bäumen von Kugelakazien zeigten einige Aeste vollkommen weiße Blätter. Unter-

1) Gris, L., De l'action des composés ferrugineux sur la végétation. Paris 1843.
2) Comptes rend. T. XXV. p. 276.
3) Gris, A., Ann. des scienc. nat. T. VII. p. 276.
4) Vergl. Sachs, J., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, Leipzig 1887. p. 266.
5) Sachs, J., Erfahrungen über die Behandlung chlorotischer Gartenpflanzen. (Arb. des bot. Inst. in Würzburg. Bd. III. 1888.)
6) Siehe Sachs, J., Das Eisen und die Chlorose der Pflanzen. (Naturwissensch. Rundschau. Jahrg. I. 1886. p. 257.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

halb dieser wurden im Hauptstamm Löcher angebracht, die bis auf das Kernholz reichten. In diese Löcher wurden Korke eingepaßt, die in ihrer Durchbohrung rechtwinkelig gebogene Glasröhren trugen, auf deren aufrechte Schenkel man Trichter aufstellte. In diese kam verdünntes Eisenchlorid oder Eisensulfat, das mehrmals nachgefüllt wurde. Nach 10—14 Tagen waren die über der Zuführungsstelle gelegenen Blätter vollkommen ergrünt.

Diese Versuche wurden durch Landes-Oekonomierat Goethe[1]) in Geisenheim bei bleichsüchtigen Obstbäumen wiederholt. Hierbei gab man kleineren Bäumen 1 kg, größeren sowie Pyramiden 2 kg Eisenvitriol in Gräben, die man 50—100 cm vom Stamme entfernt kreisförmig in einer Breite und Tiefe von 20—30 cm aufgeworfen hatte. Diese Gräben wurden zuerst mit Wasser sehr ausgiebig angefeuchtet, und dann das Eisensalz eingestreut. Auch hier war der Erfolg ein überraschend günstiger.

Zahlreiche Gelehrte und Praktiker[2]) bestätigen die gute Wirkung der Eisensalze, besonders des Eisensulfates, bei der Heilung der Chlorose der Reben. Besonders wirkungsvoll soll sich die Zuführung des Eisensulfates nach dem Verfahren von Rassiguier[3]) gezeigt haben. Danach werden die Stöcke unmittelbar nach der Ernte geschnitten, trotz dem Vorhandensein der Blätter, und mit einer Lösung von 35 bis 40 Proz. Eisensulfat behandelt, indem man die Schnittflächen damit bestreicht. Durch das Waschen der ganzen Stöcke mit dieser Lösung soll der Effekt noch sicherer hervortreten.

Wenn wir den Erfolg dieser Prozedur in manchen Fällen auch nicht anzweifeln, so hat das angeführte Mittel doch in der gegebenen Form keine Bedeutung für unsere deutschen Verhältnisse, da ein Schnitt der Reben vor Winter sich erfahrungsgemäß als unzweckmäßig erwiesen hat. Es hat sich nämlich gezeigt, daß vor Winter geschnittene Stöcke weniger hohe Kältegrade, namentlich im Nachwinter, ertragen, und daß sie infolge des etwas früheren Austreibens mehr unter Frühjahrsfrösten zu leiden haben. Außerdem ist dem Winzer aber im Falle eines starken winterlichen Frostschadens die Möglichkeit genommen, durch einen den Verhältnissen angepaßten Schnitt die Wirkung dieser Beschädigung wieder teilweise auszugleichen.

Guillon[4]) empfiehlt deshalb in Gegenden, in denen Frostschäden im Winter häufiger sind, den Schnitt zweimal vorzunehmen. Im Oktober oder November schneidet man die Reben etwa 3—4 Augen oberhalb des definitiven Schnittes und nimmt hierauf die Bepinselung vor. Im Frühjahr wird dann durch ein nochmaliges Schneiden die Korrektur herbeigeführt.

Aber auch noch nach einer anderen Seite erregt das Verfahren

---

1) Goethe, R., Die Behandlung bleichsüchtiger und gelbsüchtiger Obstbäume mit Eisenvitriol. (Pomolog. Monatshefte. 1891. Heft 11.)

2) Tord, Expériences contre la chlorose en terre de Champagne. (Progrès agricole et viticole. 13 mars 1887.) — Bernard, Le calcaire. 1892. — Chauzit, La chlorose des vignes. (Revue de viticulture. T. XV. 1901. p. 718.) — Tomè, C., Il solfato di ferro e la clorosi. (L'Italia agricola, anno XXIX. Piacenza 1892; zit. n. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894. p. 164.) — Bajor, Weinlaube. 1899. p. 152 u. v. a.

3) Rassiguier, Memoire sur le badigeonage au sulfate de fer, traitement radical de la chlorose. (Revue de viticulture. T. V. No. 123. p. 405.) – Idem, Le badigeonnage contre la chlorose. (Revue de viticulture. T. XVIII. 1902. p. 191.)

4) Guillon, J. M., Le procédé Rassiguier et la taille de printemps. (Revue de viticulture. T. VI. 1896. p. 94.)

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Rassiguier Bedenken. Nach Guillon[1]) wurden hier und da Absterbungserscheinungen an Stöcken beobachtet, die dieser Behandlungsweise ausgesetzt worden waren, namentlich bei jüngeren Stöcken. Diese nachteilige Wirkung des Eisenvitriols wird von verschiedener Seite gemeldet[2]).

Auch bei der Zuführung dieses Salzes durch die Wurzeln, also beim Ausstreuen auf dem Boden oder dem Begießen des Bodens mit Eisenvitriollösungen, muß man mit den zu verwendenden Quantitäten vorsichtig sein, wie aus den Versuchen von Wortmann[3]) hervorgeht. Dieser hatte chlorotische, 12—15-jährige Rebstöcke in einem Treibhause der Geisenheimer Lehranstalt mit je 2 kg Eisenvitriol Ende Februar gedüngt, wobei jeder Stock 2 kg von diesem Salz erhielt. Der gewünschte Erfolg trat bald ein, die Stöcke wurden wieder grün und zeigten während des ganzen Jahres ein gesundes Aussehen und freudiges Wachstum. Dagegen war eine starke Depression in der Entwickelung der behandelten Stöcke im folgenden Frühjahr wahrnehmbar, die erst später, im Laufe des Sommers, einem normalen Aussehen Platz machte. Die Vermutung, daß diese krankhafte Erscheinung auf eine Schädigung des Wurzelwerks der Reben durch Eisenvitriol zurückzuführen sei, hat die mikroskopische Untersuchung mehrerer Wurzeln bestätigt. Das Mark, die Markstrahlen, das Rindenparenchym, stellenweise auch die Gefäße und Holzzellen zeigten sich teilweise mit Eisenverbindungen ganz angefüllt. Hierdurch wurde die Wurzeltätigkeit und damit die ganze Entwickelung der Rebstöcke erheblich gestört. Auffallend ist hierbei allerdings die Tatsache, daß die durch die Eisensulfatdüngung hervorgerufene nachteilige Beeinflussung des Wachstums sich erst ein volles Jahr nach der Behandlung zeigte. Dafür gibt Wortmann folgende Erklärung: „Um die Rebstöcke ins Treiben zu bringen, werden dieselben im Februar bis März mit namhaften Quantitäten warmen Wassers begossen, so daß der Boden, in welchem die Wurzeln sich befinden, mit Wasser ganz durchtränkt wird, später, nach Beginn des Austreibens, wird dann weniger und regelmäßig jeden Tag gegossen. Als nun im Frühjahr 1890 die Erscheinung der Bleichsucht sich bemerkbar machte, waren bereits die starken Beschwemmungen des Wurzelsystems mit Wasser vorüber, und es wurde nur noch in kleinen Portionen gegossen. Infolgedessen wurden nach der vorgenommenen Düngung mit Eisenvitriol die relativ großen Mengen des dem Boden zugeführten Salzes nicht auf einmal, sondern erst allmählich gelöst; die wässerige Lösung drang nach und nach tiefer in den Erdboden ein und wurde hier zum geringen Teil von den Wurzeln gleich aufgenommen und verwendet, während der weitaus größte Teil indessen vom Erdboden absorbiert wurde und daher momentan für die Wurzeln nicht zur Geltung kam, sondern erst von denselben wieder gelöst werden mußte. Daher kam es, daß in der Vegetationsperiode 1890 die Wurzeln genügende, aber nicht zu viel Eisenmengen erhielten. Bei Beginn der Treiberei im folgenden Jahre aber wurde durch die großen Quantitäten warmen Wassers zu viel Eisen gelöst, welches nun direkt in die Wurzeln eindringen konnte und dann selbstredend die Schädigung

1) Guillon, J. M., Resultats obtenus à l'aide du traitement Rassiguier. (Revue de viticulture. 1896. p. 458.)

2) Vgl. Guozdenovitsch. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. IV. 1901. p. 756.) — Ferner Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. I. 1891. p. 36.

3) Wortmann, J., Untersuchungen von mit Eisenvitriol gedüngten Reben. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. 1894. p. 23.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

herbeiführte. Als später im Laufe des Sommers weniger gegossen wurde, konnte den Wurzeln, und besonders den inzwischen neugebildeten Wurzeln, kein gelöstes Eisen mehr zugeführt werden, sondern die Wurzeln hatten wieder die Aufgabe, das vom Boden absorbierte Eisen erst selbst in Lösung zu bringen, und daher konnten sie nur geringere Eisenmengen aufnehmen."

Um die Wirkung des Eisensulfates bei direkter Zuführung zu den oberirdischen Pflanzenteilen zu prüfen, habe ich nachstehende Versuche angestellt:

Versuch 1. Am 19. Aug. 1905 um 11 Uhr morgens wurden einjährige Triebe von Riesling in kleine Flaschen eingestellt, die mit destilliertem Wasser gefüllt waren, dem je 6, 5, 4, 3, 2, 1, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ Proz. Eisensulfat zugesetzt war. Schon am folgenden Tage morgens 10 Uhr zeigten die Triebe in der 6-, 5-, 4-, 3- und 2-proz. Lösung geschwärzte Blattnerven, bei der 1-proz. Lösung trat diese Schwärzung erst abends gegen 6 Uhr hervor; bei $^1/_2$-proz. Eisensulfat war am 21. Aug. morgens um 8 Uhr ein Anflug von Schwärzung an dem Blattstiel und dem Anfang der Hauptblattnerven bemerkbar; abends 6 Uhr waren die Blätter der Triebe in der 6- und 5-proz. Lösung bereits vollkommen schwarzdürr. Am 22. Aug. zeigten auch die Blattnerven der Triebe in $^1/_4$-proz. Lösung in ihrem basalen Teile eine schwache Dunkelfärbung. Eine Revision am 28. Aug. ergab, daß auch in der $^1/_8$-proz. Lösung das Holz hier und da schon äußerlich wahrnehmbare schwarze Flecken erhalten hatte, ebenso waren die Blattstiele gedunkelt.

Versuch 2. Er begann am 29. Juli. Es wurden dabei $^1/_{11}$-, $^1/_{15}$-, $^1/_{22}$-, $^1/_{45}$- und $^1/_{90}$-proz. Lösungen von Eisensulfat verwandt, sonst war die Behandlung wie bei Versuch 1. Am 4. Aug. war an den Rebtrieben äußerlich noch alles intakt, nur in der $^1/_{11}$-, $^1/_{15}$- und $^1/_{22}$-proz. Lösung zeigten sich in den Blattstielen einige gedunkelte Gefäßbündel, doch sehr wenige. Am 8. Aug. waren die Rebentriebe in der $^1/_{11}$-proz. Lösung nur im untersten Teil des Holzes stärker gedunkelt, Blattstiel und Blattnerven zeigten fortschreitende Dunkelfärbung; die Blätter saßen nur noch lose am Stiel und fielen bei Berührung ab. Die Triebe in der $^1/_{22}$-proz. Lösung waren im unteren Holzteil gedunkelt, ebenso zeigten ihre Blattstiele in ihrer ganzen Länge eine schwache Schwärzung; die Blätter sahen normal aus und saßen noch fest am Stiel. Am 25. Aug. ergab eine Revision dieser Versuchsreihe, daß erst bei der $^1/_{45}$-proz. Lösung an Rebtrieben, vor allem an den Blattstielen und Blättern, nirgends eine Spur von Schwärzung hervorgetreten war, in der $^1/_{22}$-proz. Lösung waren die unteren Blätter der Triebe abgefallen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß äußerst verdünnte Lösungen ($^1/_{22}$-proz.) von Eisensulfat schon imstande sind, pflanzliche Organe zu schädigen, wenn sie diesen direkt zugeführt werden. Aus diesem Grunde ist aber auch die Methode des Weinbauers Flontier[1]) nicht ganz einwandfrei, der die Chlorose dadurch zu heilen suchte, daß er die gelb werdenden Stöcke mit Hilfe eines Nagelbohrers anbohrte und in die etwa 6—8 cm tiefen Löcher eine 50-proz. Eisensulfatlösung goß. Auch die durch die häufigen Bohrungen entstehenden Wunden sind für den Stock nachteilig. Dasselbe gilt von dem Heilverfahren Mokrzeckis[2]),

1) Rev. de viticult. 1896. No. 131.

2) Mokrzecki, S., Ueber die innere Therapie der Pflanzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. p. 257.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das im wesentlichen auf gleichem Prinzip beruht. Mit Hilfe eines besonders konstruierten Apparates dringt hier die zuzuführende Flüssigkeit sofort nach dem Anbohren in das Bohrloch ein, wodurch ein ununterbrochener Aufstieg in den Gefäßen ermöglicht ist. Zur Heilung der Chlorose verwandte Mokrzecki Lösungen von 0,05—0,25 Proz. Eisensulfat, wobei von der letzteren die Blätter schon nach 3 Tagen sich an den Nerven bräunten. Die Lösungen werden ja allerdings noch durch den aufsteigenden Saft der Gefäße verdünnt, aber bei längerer Anwendung des Verfahrens und Zuführung von großen Massen solcher Flüssigkeit dürfte allmählich doch in den Blättern eine schädliche Konzentration des giftigen Salzes entstehen, denn die aufgesaugten Mengen sind oft ziemlich beträchtlich; ein kleiner Baum (20 cm dick) saugte bei heißem, trockenem Wetter in 24 Stunden 8 Liter der Flüssigkeit.

Wenn Flontier bei Anwendung selbst einer 50-proz. Eisensulfatlösung keine nachteiligen Folgen an den so behandelten Stöcken wahrgenommen hat, so liegt das vielleicht an einer wenig scharfen Beobachtung, oder aber es ist die Erklärung darin zu suchen, daß sich das Eisensulfat unter dem Einfluß des Sauerstoffes der Luft bei Gegenwart von Wasser in ein basisches schwefelsaures Salz des Eisenoxyds verwandelt hat, das in Wasser unlösbar ist.

Dufour[1]) hat dem Rebholz durch Bestreichen von Einschnitten eine 20-proz. Eisenvitriollösung zugeführt und will als eine Folge dieser Prozedur nach 3 Tagen Wiederergrünen der gelbsüchtigen Rebstöcke beobachtet haben.

Das Verfahren Rassiguiers wurde durch Giraud[2]) insofern abgeändert, als dieses nicht im Vorwinter, sondern im Sommer zur Anwendung kommt. Hierbei werden 50—60 cm oberhalb der Trauben die chlorotischen Triebe abgeschnitten und an dieser Stelle mit einer 40-proz. Eisensulfatlösung bestrichen. Die aus den Seitenaugen entspringenden neuen Triebe zeigen dann eine lebhaft grüne Färbung. Man kann auch im Frühjahr dem einjährigen Rebholz oder den Schenkeln Wunden beibringen und diese mit der oben angeführten Lösung bestreichen.

Dufour[3]) verwendet zur Heilung der Chlorose ein Gemisch von 3 kg Eisenvitriol und $2^1/_2$ kg gebrannten Kalk auf 100 l Wasser, eine Brühe, die mit der Rebenspritze auf die kranken Blätter gespritzt wird. Das Mittel hat sich von Erfolg gezeigt bei manchen Birnbäumen und bei den amerikanischen Reben. Dasselbe Verfahren empfiehlt Müller-Thurgau[4]). Dieser verwendet $^1/_2$-proz. Eisensulfatlösung oder 2 kg Eisensulfat und 2 kg gebrannten Kalk auf 100 l Wasser. „Geradezu überraschend ist es zu sehen“, schreibt er, „wie schon nach wenigen Tagen an jeder Stelle, wo ein Tröpfchen auffiel, die Blätter sich grün färben; sie sehen daher bald grün gefleckt und bei dichter Bespritzung gleichförmig grün aus.“ Er empfiehlt, das Eisenvitriol der Bordelaiser Brühe zuzusetzen und zwar 1 kg auf 100 l.

Durch Versuche habe ich mich in einigen Fällen von der Wirksam-

1) Dufour, J., Traitement de la chlorose. (Chronique agr. du Canton de Vaud. 1903. p. 447.)

2) Giraud, M., Traitement d'été de la chlorose. (Rev. de viticult. 1896. No. 136. p. 94.)

3) Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. Bd. I. 1891. p. 36.

4) Müller-Thurgau, Bekämpfung der Gelbsucht an Reben und Obstbäumen. Schweiz. Zeitschr. für Obst- und Weinbau. 1901. p. 238.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keit einer solchen Behandlungsweise überzeugt, doch traten hierbei bei Verwendung von $^1/_2$-proz. reinen Lösungen schwarze Flecken auf den Blättern auf, die wohl auf ein zu starkes Eindringen der Lösung in das Blatt und Bildung von gerbsauren Eisenverbindungen zurückzuführen sein dürften. Aehnliche Erfahrungen machte Guillon[1], der feststellte, daß zuweilen die Blätter verbrannten, wenn man die Dosis von 300 g auf 100 l Wasser überschritt.

Das von mir beobachtete Ergrünen chlorotischer Blätter etwa 10 Tage nach einer dreimaligen Befeuchtung ihrer Oberfläche mit einer $^1/_2$-proz. Eisenvitriollösung zeigte sich besonders intensiv an den jüngeren, noch nicht vollkommen entwickelten Blättchen. Der erreichte Farbenton stimmte jedoch nicht mit dem des normalen Blattgrünes überein, sondern zeigte einen Stich ins Bläuliche, was mich zu der Ansicht verleitet, daß hier eine einfache Säurewirkung auf das Chlorophyll vorliegt. In den 50er Jahren hat nämlich Sachs[2] nachgewiesen, daß in vergeilten Primordialblättern der Keimpflanzen von Phaseolus durch Schwefelsäure ein Ergrünen des Chlorophylls ohne Lichteinwirkung hervorgerufen werden kann. Etwas später beobachtete Fremy[3], daß entfärbtes Chlorophyll mit Aether und Salzsäure einen blauen Bestandteil ausscheidet.

Bei mit Kalk neutralisierten Eisenbrühen dürfte weiterhin die Schattenwirkung des Belages als Schutzmittel gegen die zu starke Sonnenbestrahlung und die dadurch teilweise behinderte Zerstörung des Chlorophylls durch das Licht wesentlich in Betracht kommen[4].

Daß es nicht die Zuführung von Eisen zu den Blättern ist, die das Ergrünen derselben herbeiführt, beweisen die zahlreichen Analysen chlorotischer Rebenblätter, aus denen zur Evidenz hervorgeht, daß die ikterischen Rebenorgane zumeist mehr Eisen enthalten als die gesunden. Es folgt eine diesbezügliche Analyse von Schulze[5].

Zusammensetzung der Reinaschen von Blättern und Rebholz von gesunden und gelbsüchtigen Sylvaner Stöcken.

Auf 100 Proz. abgerundete Zahlen:

	Blätter		Rebholz	
	der gesunden Reben	der erkrankten Reben	der gesunden Reben	der erkrankten Reben
Kali	13,02 Proz.	5,29 Proz.	32,20 Proz.	16,42 Proz.
Natron	1,07 „	0,41 „	0,49 „	0,28 „
Kalk	55,19 „	60,90 „	41,77 „	52,50 „
Magnesia	11,33 „	13,18 „	10,88 „	13,43 „
Eisenoxyd	1,26 „	1,58 „	0,53 „	1,24 „
Manganoxydoxydul	0,86 „	0,70 „	0,49 „	0,38 „
Schwefelsäure	4,92 „	4,38 „	4,18 „	4,46 „
Phosphorsäure	3,63 „	3,89 „	6,32 „	5,85 „
Chlor	1,57 „	1,71 „	2,14 „	1,72 „
Kieselsäure	7,51 „	8,35 „	1,48 „	4,11 „

Diese Zahlen lassen erkennen, daß der Gehalt an Eisenoxyd in den Organen chlorotischer Rebteile größer ist, als in denjenigen gesunder

1) Guillon, J., La chlorose. (Revue de viticulture. T. XVIII. 1902. p. 129.)

2) Sachs, J., Uebersicht der Ergebnisse der neueren Untersuchungen über das Chlorophyll. (Flora. 1862. p. 186.)

3) Compt. rend. T. L. 1860. p. 140; zit. n. Wiesner, Die Entstehung des Chlorophylls. Wien 1877. p. 29.

4) Vergl. Schander, R., Ueber die physiologische Wirkung der Kupfervitriolkalkbrühe. (Landw. Jahrb. 1904. p. 570.)

5) Schulze, E., Ueber die Aschenzusammensetzung von gelbsüchtigen und von gesunden Oesterreicher Reben. (Annalen der Oenologie. 1873. p. 14.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stöcke. Diesen Befund bestätigen die Untersuchungen von Vanuccini, Chauzit, Foëx, Millardet und Joulie[1]). Auffallend ist die starke Reduktion des Kalis in den erkrankten Stöcken[2]). Dieselben enthalten davon nur halb so viel als die gesunden Stöcke. Ein gleiches Verhältnis ergeben die Zahlen beim Natron. Die erkrankten Reben sind reicher an Kalk und Magnesia als die gesunden. Bei Phosphorsäure, Schwefelsäure und Chlor sind die Unterschiede gering; der Kieselsäuregehalt ist in den gelbsüchtigen Reben etwas überwiegend. Nach Degrullie und Gastine[3]) ist die Menge von Kalk in den chlorotischen Reben beträchtlicher, desgleichen die von Magnesia und Kieselsäure, dagegen sind dieselben im Vergleich zu gesunden Stöcken arm an Kali, Natron, Phosphorsäure und Schwefelsäure.

Sehr interessant ist die Tatsache, daß nach Analysenbefunden der eben genannten Autoren bei den nach dem Verfahren Rassiguier behandelten und ergrünten Stöcken der Gehalt an Schwefelsäure in ihnen beträchtlich zugenommen hatte. Parallel damit war in gleichem Maße der Gehalt der Blätter an Kali gestiegen. Degrullie und Gastine schließen daraus, daß bei dem genannten Verfahren die Schwefelsäure als die wirksame Ursache anzusprechen sei. Und in der Tat hat der Ersatz des Eisenvitriols durch Schwefelsäure gleich gute Resultate ergeben.

Diese Ansicht scheint mir eine große Wahrscheinlichkeit zu haben, und ich denke mir die Wirkung der Schwefelsäure in dem beregten Falle derart, daß diese Säure die neutral oder gar alkalisch gewordenen Pflanzensäfte wiederum ansäuert und dadurch die Aufnahme der Bodennährstoffe erleichtert. Zur Erklärung dieses physiologischen Prozesses sei ein Versuch von Zöllner[4]) herangezogen: Man bindet über ein mit angesäuertem Wasser vollkommen gefülltes Gefäß eine Schweinsblase, so daß diese von der saueren Flüssigkeit ebenfalls durchtränkt wird. So kann dieselbe mit der Membran eines Wurzelhaares verglichen werden. Legt man nun auf diese Schweinsblase ein Stück phosphorsauren Kalkes, so werden an der Berührungsfläche sich stetig Teilchen dieses Salzes lösen und in die saure Flüssigkeit diffundieren. In dieser Weise wird allmählich das ganze Stück auf der Oberfläche der Membran verschwinden. Das Ergebnis wäre ein anderes bei neutral reagierendem Wasser.

Wenn Stévignon[5]) bei seinen Versuchen mit Eisenchlorid und Eisensulfat einerseits und Salzsäure und Schwefelsäure andererseits feststellt, daß die letzteren Flüssigkeiten gegenüber den ersteren nur ein schwächeres Ergrünen der chlorosierten Rebstöcke hervorgerufen hatten, und daraus den Schluß zieht, daß es demgemäß das Eisen sei, dem die ergrünende Wirkung zugeschrieben werden müsse, so können wir ohne Anzweiflung der Versuchsergebnisse diesen Folgerungen nicht beitreten.

---

1) Zit. n. Guillon, Société centrale d'agriculture de l'Hérault. (Allgem. Weinzeitung. 1895. No. 52. p. 514.)

2) Das geringere Vorhandensein des Kalis in gelbsüchtigen Rebblättern bestätigen auch von Mach und Kürmann, Biedermanns C. 1877. p. 58.

3) Zit. n. Guillon, l. c. p. 514.

4) Zit. n. Müller-Thurgau, Ueber Wachstum und Bedeutung der Wurzeln. (Landw. Jahrb. 1875. p. 1026.)

5) Stévignon, H., La chlorose et son traitement d'été. (Progrès agricole et viticole. T. XLII. 1904. p. 159.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vielmehr dürften uns die Versuchsresultate von Hollrung[1]) eine vorerst genügende Erklärung dieser Erscheinung gewähren. Dieser Forscher stellte fest, daß ein saueres Nährmedium eine antichlorosierende Wirkung ausübe, einerlei ob Eisen zugegen sei oder nicht. Denselben Einfluß äußert das Eisen, so daß beide, die Säure und das Eisen, in ihrer Wirkung nach dieser Richtung parallel laufen und sich demgemäß auch unterstützen. In welcher Weise hier das Eisen physiologisch tätig ist, bleibt vor der Hand noch eine offene Frage, doch läßt sich eine Reizwirkung vermuten[2]).

Es liegt uns fern, in die Bedeutung des Eisens für die Chlorophyllbildung der grünen Gewächse Zweifel zu setzen, denn die Kulturversuche haben gezeigt, daß dieses Metall von der höheren grünen Pflanze auf die Dauer nicht entbehrt werden kann. Es ist zur Ausbildung des Chlorophylls in seiner normal grünen Farbe unumgänglich notwendig, obwohl nach Molisch[3]) das Molekül des Chlorophyllfarbstoffes kein Eisen enthält. Die Mengen Eisen, welcher die Pflanze zu ihrer normalen Entwickelung benötigt, sind aber äußerst gering. Nach Knop[4]) genügt beispielsweise der Eisengehalt einer Eichel zur Entwickelung der jungen Pflanze 1--2 Jahre lang.

Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen und auf Grund der früher erwähnten Analysen werden wir zu der Ansicht gedrängt, daß die Chlorose der Reben sehr selten oder gar nicht auf Eisenmangel zurückzuführen ist.

Dessenungeachtet bleibt die günstige Wirkung des Eisensulfates bei der Heilung der Chlorose unangezweifelt bestehen, obwohl die therapeutische Verwendung dieses Salzes auch manche Gegner hat. Lassaigne[5]), der Versuche über die Wirkung der Eisensalze anstellte, behauptet, daß die löslichen schon in ganz geringen Mengen ein Gift für die Pflanzen seien, während die unlöslichen nach jeder Richtung vollkommen wirkungslos blieben.

Für Dehérain (1878)[6]) ist das Eisensulfat für die Vegetation von der schlimmsten Wirkung, weil es dem Boden einen Teil des zur Keimung und Funktion der Wurzeln notwendigen Sauerstoffes raubt.

Joulie (1886—88)[7]) betrachtet die Behandlung mit Eisensalzen als rein empirisch und selbst die Wirkung des Eisens als „phantastisch und imaginär".

Dementjew[8]) sagt: „Was das Eisenvitriol anbetrifft, das viele als ein gegen die Chlorose spezifisches Mittel betrachten, so habe ich bei dem Einführen desselben in die Pflanze sowohl nach der Methode von Ressegnier[9]) durch Beschmieren der an den Pflanzen gemachten

---

1) Hollrung, M., Bericht über die Chloroseversuche in der Provinz Sachsen. (Manuskript. 1905. p. 26.)

2) Siehe Randa, M., Studien über die Reizwirkung einiger Metallsalze auf das Wachstum höherer Pflanzen. (The Journal of the College of Science, Imperial University of Tokyo. 1904. Zit. nach Biedermanns C. 1906. Heft 3. p. 211.)

3) Molisch, Die Pflanze in ihrer Beziehung zum Eisen. 1892. p. 81.

4) Knop, W., Versuche über die Wirkung der Eisensalze auf das Ergrünen der Chlorophyllkörner. (Ber. über die Verhandlg. der Kgl. Sächs. Ges. der Wiss. Leipzig 1869. p. 5.)

5) Lassaigne, Journ. de Chim. méd. Sér. 3. T. VIII. p. 264; zit. nach Knop, l. c. p. 3.

6) Zit. nach Roux, l. c. p. 415.

7) Zit. nach Roux, l. c. p. 414.

8) Dementjew, A., Die Chlorose der Pflanzen und Mittel zu ihrer Bekämpfung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. p. 336.)

9) Soll wohl Rassiguier heißen.

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

frischen Wunden mit Eisenvitriollösung, wie auch nach meiner Methode gerade durch die Wurzeln niemals auch nur die geringste Verbesserung beobachtet. Die gegensätzlichen Behauptungen halte ich für das Resultat eines einfachen Mißverständnisses.“

Wir können uns ja nicht verhehlen, daß bei einem Teil der erzielten und publizierten günstigen Resultate bei Zuführung des Eisensulfates in den Boden andere Faktoren, besonders aber die dabei häufig vorgenommene gleichzeitige Zuführung von Wasser, mitwirkend gewesen sind. Zum anderen Teil aber sprechen die äußerst zahlreichen günstigen Erfolge und Beobachtungen, auch von wissenschaftlich geschulten Experimentatoren, doch so sehr zu Gunsten der Wirkung der Eisensalze, daß wir diese für viele Fälle als eine gegebene annehmen müssen.

Daß in der Tat das Wasser auf die Chlorose eine heilende Wirkung auszuüben vermag, zeigen deutlich die Versuche von Barth[1]) die in Rufach angestellt wurden. Hierbei erhielten je 3 gelbsüchtige Stöcke der Sorte Traminer: a) 50 g Chilisalpeter, b) 100 g Eisenvitriol, c) 50 g Chilisalpeter und 100 g Eisenvitriol, d) 50 g Chilisalpeter und 10 l Wasser, e) 100 g Eisenvitriol und 100 l Wasser, f) 50 g Chilisalpeter, 100 g Eisenvitriol und 10 l Wasser, g) 10 l Wasser. Dies geschah am 2. Juli. Das Resultat am 15. Juli war folgendes:

a) Von drei nur mit Chilisalpeter behandelten Stöcken war einer stark gelbsüchtig geblieben, zwei hatten sich etwas gebessert, die Triebspitzen waren grün.

b) Von drei nur mit Eisenvitriol behandelten Stöcken waren zwei mäßig gebessert, einer geheilt worden.

c) Von drei mit Eisenvitriol und Chilisalpeter behandelten Stöcken waren zwei geheilt, einer mäßig gebessert worden.

d) Von drei mit Chilisalpeter und 10 l Wasser behandelten Stöcken sind zwei geheilt, einer mäßig gebessert, Triebspitzen frisch grün.

e) Von drei mit Eisenvitriol und 10 l Wasser behandelten Stöcken sind zwei gelbsüchtig geblieben, einer ist erheblich gebessert, aber nicht vollständig geheilt worden, Triebspitzen blaßgrün.

f) Von drei mit Chilisalpeter, Eisenvitriol und 10 l Wasser behandelten Stöcken ist einer gelbsüchtig geblieben, einer merklich gebessert, einer geheilt worden, Triebspitzen frisch grün.

g) Von drei mit 10 l Wasser ohne jede weitere Beigabe behandelten Stöcken ist einer vollständig geheilt, einer erheblich gebessert und einer nur wenig gebessert worden, Triebspitzen hellgrün.

„Diese Resultate beweisen“, sagt der Versuchsansteller, „daß unter den obwaltenden Witterungsverhältnissen (2.—7. Juli warm und trocken, 8.—14. Juli mehrere gewitterartige Niederschläge) in allererster Linie die Zufuhr von Wasser heilend gewirkt hat. Chilisalpeter und teilweise auch Eisenvitriolbehandlung hat unter Zunutzmachen des natürlichen Regenwassers eine entsprechend geringere Kräftigung der kranken Stöcke ermöglicht.“ Sehr richtig sagt dann Prof. Barth weiter: „Von Eisenvitriol ist dabei nicht der Eisengehalt, sondern die bodenaufschließende Wirkung der Schwefelsäureverbindung von Nutzen gewesen.“

Nach Peters[2]) sind Säuren im stande, die im Boden gebundenen Nährstoffe zum weitaus größten Teil wieder in Lösung zu setzen. So wird durch die Schwefelsäure auch das im Boden meist in Form von

1) Barth, M., Beobachtungen über die Gelbsucht der Reben. (Weinbau u. Weinhandel. 1895. No. 50. p. 453; No. 51. p. 461.)

2) Peters, Studien über den Boden. (Landw. Versuchsstation. Bd. II. p. 136.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schwerlöslichen Verbindungen vorhandene Kali in das leicht lösliche schwefelsaure Kali übergeführt, dasselbe gilt zum Teil von den Phosphorsäureverbindungen. Von Griffiths[1]) wurde weiterhin experimentell festgestellt, daß durch das Eisensulfat das Ammoniak besser im Boden zurückgehalten wird. Hierzu kommt noch, daß das Eisenvitriol in kalkhaltigen Böden durch Verwandlung des in zu großer Menge vorhandenen, sauren kohlensauren Kalkes in kohlensaures Eisen und schwefelsauren Kalk zwei neue, für das Pflanzenleben vorteilhafte Verbindungen schafft und die schädliche Alkalität des Bodenwassers neutralisiert.

Die Ueberführung des Eisensulfates in kalkhaltigen Böden in Eisenkarbonat erfolgt sehr rasch. Vernet[2]) glaubt diese Umsetzung dadurch verhüten zu können, daß er einer 5-proz. Eisensulfatlösung noch 5 Proz. Schwefelsäure zusetzt und jedem Stock 2 l von dieser Flüssigkeit gibt. Nach ihm wird durch die freie Säure der Kalk in Gips übergeführt, und das Eisensulfat als solches bliebe im Boden erhalten. Der Erfolg soll ein überraschend guter sein, was wir unter Beziehung auf unsere vorhergehenden Erörterungen keineswegs bezweifeln. Die Erklärung Vernets erscheint mir aber bei Verwendung von so geringprozentigen Lösungen bei Gegenwart von großen Mengen Kalk eine durchaus ungelungene.

Bei der Umwandlung des Eisensulfates im Boden ist die Bildung des schwefelsauren Kalkes für unsere Betrachtungen von nicht zu unterschätzender Bedeutung, zumal der Gips in dieser Weise in feinster Verteilung im Boden entsteht. Die günstige Wirkung des Gipses auf die Reben ist durch die Versuche von Oberlin[3]) u. a. hinreichend sichergestellt. Es hat sich bei Anwendung des Gipses gezeigt, daß eine merkliche Wirkung auf die Vegetation und den Ertrag der Reben nur dann hervortritt, wenn der Boden reich an Nährstoffen ist. Im Anschluß daran ist es von Interesse, daß Bellair[4]) konstatiert hat, daß ohne eine vollständige Düngung das Eisensulfat nicht im stande sei, die Chlorose zu unterdrücken.

Der Gips wirkt als lösliches Kalksalz auf andere Basen der Ackererde, wobei sich dessen Säure mit diesen verbindet und sie in eine lösliche Form überführt. Namentlich gilt dies für die Kaliverbindungen.

Die Empirie hat aber gelehrt, daß Kalisalze, namentlich Holzasche, einen günstigen Einfluß auf das Gesunden chlorotischer Reben ausüben[5]), was leicht begreiflich ist, wenn wir uns daran erinnern, daß die Analysen chlorotischer Reben auf einen Kalimangel hinweisen.

Das dem Boden zugeführte Eisensulfat wirkt also einesteils durch Zerstörung des sauren kohlensauren Kalkes und weiterhin direkt und indirekt durch Löslichmachen der Bodennährstoffe.

Unsere abschließende Ansicht über die Bedeutung des Eisensulfates bei der Behandlung der Chlorose ist die, daß dieses Salz in vielen Fällen als ein Heilmittel der genannten Krankheitserscheinung anzusehen ist. Der damit

1) Griffiths, A., On the use of ferrous sulphate in agriculture. (Journ. Chem. Soc. No. 279 and 280. 1886. p. 114—122; zit. nach Justs Bot. Jahresber. 1886. I. Abt. p. 142.)

2) Vernet, L., Traitement de la chlorose de la vigne en terrain calcaire par l'action combinée du fer et la décalcification du sol. (Progrès agr. et vit. T. XLI. 1904. p. 38.)

3) Oberlin, Stickstofffresser und Gips. (Mitteilungen über Weinbau u. Kellerwirtschaft. 1889. p. 40 ff.)

4) Siehe Roux l. c. p. 415.

5) Vergl. Diefenbach, L., Die Rebenkrankheiten. 1895. p. 104.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erreichbare Effekt ist aber kein anhaltender, da durch dieses Mittel die Grundursachen des Uebels nicht dauernd beseitigt werden. In welcher Weise wir uns die Wirkung zu denken haben, habe ich in Vorstehendem klarzulegen gesucht. Ob dem Eisensulfat als solchem ein direkter Einfluß auf den Rebstock zuzuschreiben ist, bedarf noch einer weiteren Aufhellung.

2. Die Chlorose auf Kalkböden.

Schon lange vor Eintritt der Reblauskrise haben die französischen Weinbauer beobachtet, daß die Reben in sehr kalkhaltigen Böden stark von der Chlorose ergriffen werden. Besonders auffällig trat diese Krankkeitserscheinung in den Kreideböden der Champagne und der Charente hervor. Wie man in Deutschland in Anerkennung der Autorität von Sachs den Eisenmangel für das ikterische Phänomen fast ausschließlich verantwortlich machte, in gleichem Maße gewann man in Frankreich immer mehr die Ueberzeugung, daß ein Ueberschuß an kohlensaurem Kalk im Boden als Hauptursache bei der Entstehung der Chlorose der Reben, der europäischen wie der amerikanischen, anzusehen sei. Die hervorragendsten Wissenschaftler und Praktiker auf weinbaulichem Gebiete vertreten dort diesen Standpunkt.

„Die Chlorose“, sagt Viala[1]), „äußert sich nur in den Kalkböden, und sie ist um so intensiver, als die Proportion dieses Elementes höher ist. Niemals für unseren Teil haben wir die Reben anderswo gelb werden sehen als in den Kalkböden, und diese Beobachtung erstreckt sich auf alle Pflanzen“.

Ravaz[2]) bemerkt gleichsinnig: „Die Chlorose ist eine Krankheit, welche sich beinahe ausschließlich in Kalkböden zeigt, das Kalkkarbonat ist davon die Ursache.“

Planchon[3]), der Chlorose von Cottis unterscheidet, ist der Ansicht, daß erstere durch kalte Frühjahre hervorgerufen würde, während die letztere auf kalkhaltigen Mergelböden entstünde, die unter dem Einfluß der Feuchtigkeit zerfallen.

Chauzit[4]) kennzeichnet seinen Standpunkt in dieser Frage, wie folgt: „Wir wollen von vornherein sagen, daß die bestimmte Ursache der Chlorose der Kalk ist, denn in den Böden, in denen dieses Element fehlt oder nur in geringerer Proportion existiert, zeigt sich die Chlorose nicht.“

Besonders empfindlich zeigen sich die amerikanischen Reben gegenüber einem hohen Kalkgehalt des Bodens. Sehr klar geht das aus folgenden von Chauzit[5]) festgestellten Zahlen hervor:

Bodenarten, in welchen die amerikanischen Reben gut gedeihen und nicht vergilben:

Erde von La Ciotat (Bouches du Rhône)	0,680	Proz.	Kalk
„ „ Tout y Faut (Charente Inférieure)	2,125	„	„
„ „ Ledenon (Gard)	3,670	„	„
„ „ Pezilla (Pyrénées Orientales)	8,790	„	„

1) Roux, l. c. p. 266.
2) Roux, l. c. p. 266.
3) Zit. nach Houdaille et Semichon, Étude de l'état physique du calcaire considéré comme cause déterminante de la chlorose. (Ann. de l'école nationale d'agriculture de Montpellier. T. VIII. 1895. p. 250.)
4) Chauzit, B., Revue de viticulture. T. XVIII. 1902. p. 15.
5) Allgemeine Wein-Zeitung. 1898. No. 23. p. 224.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bodenarten, in welchen die amerikanischen Reben vergilben:

Erde von	Maine-Neuf (Grande-Champagne)	48,53	Proz. Kalk
„ „	Ecurolles (Charente-Inférieure)	44,67	„ „
„ „	Julliac-le-Coq (Charente)	43,66	„ „
„ „	Verchant (Hérault)	35,25	„ „

Der Kalk äußert nicht in allen Formen eine gleich chlorosierende Wirkung. Nach Bernard[1]) ist die Feinheit des Kalkes und dessen feine Verteilung im Boden hierbei von großer Bedeutung. B. zeigt, daß die Wirkung des Kalkes vorherrschend werden kann in Tonböden, wenn er darin in feinster Verteilung vorhanden ist. Wenn man Bodenproben mit Hilfe von immer feiner werdenden Sieben in Partieen von verschiedener Korngröße trennt, so nimmt der Prozentsatz des Kalkes mit der Feinheit der Bodenpartikel entweder ab oder zu; im letzteren Falle seien die Kalke besonders geeignet, die Chlorose zu erzeugen. Auch Coutagne[2]) glaubt, daß die Oberfläche des Kalkes von höherer Bedeutung sei als die Menge desselben.

Houdaille und Semichon[3]) gingen noch weiter. Nach diesen Forschern ist unter Berücksichtigung der Feinheit des Kalkes und seiner Verteilung im Boden doch die Schnelligkeit des spezifischen Einflusses der verschiedenen Kalkarten bei Erzeugung der Chlorose eine verschiedene. Durch eine besondere Methode mit Hilfe eigens konstruierter Apparate haben sie versucht, diesem Einfluß der verschiedenen Kalkarten durch eine genaue Charakterisierung eine wissenschaftliche Präzision zu geben. Dieses Verfahren gründet sich auf eine Bestimmung der Oberfläche der Kalkpartikelchen, die man durch Deduktionsschluß erhält aus dem Maße der Permeabilität desselben, und auf die automatische Aufzeichnung der Schnelligkeit der Kohlensäureentwickelung bei Einwirkung von Salzsäure auf den zu untersuchenden Kalk. Die mit Hilfe dieser Methode ausgeführten Untersuchungen haben ergeben, daß die Kalkarten der verschiedenen geologischen Formationen, deren Kalke durch einen verschiedenen physikalischen Zustand charakterisiert sind, unter der Einwirkung derselben Säure in gleichen Zeiträumen einen verschiedenen Lösungsgrad besitzen. Der Grad der Wirkung einer Säure im Boden wächst weiterhin mit dem Grade der Verteilung des Kalkes in ihm und bei sonst vollkommen gleichen Bedingungen auch proportional mit dem Gehalt des Bodens an Kalk. Es sind also danach drei Hauptfaktoren, durch welche die chlorosierende Kraft eines Bodens gekennzeichnet würde: 1) Gehalt an Kalk, 2) Zustand der Verteilung des Kalkes und 3) die spezifische Auflösungsgeschwindigkeit des Kalkes. Diese Faktoren bestimmen nach den genannten Autoren auch die Löslichkeit des Kalkes im Boden durch das Wasser. Je feiner der Kalk im Boden ist, desto größer ist auch seine Kontaktoberfläche mit den Wurzeln, und die Aufnahme des Kalkes durch diese wachse in gleichem Maße.

Die größte Auflösungsgeschwindigkeit zeigen die porösen Kalkarten, besonders die diluvialen und alluvialen Tuffe; im direkten Gegensatz dazu stehen die dolomitischen und bituminösen Kalke, denen folglich viel geringeres chlorosierendes Vermögen zusteht, was ich in Südtirol bestätigt fand. Nach einer mündlichen Mitteilung des Herrn Direktors Mader in St. Michele (Südtirol) existieren im dortigen Rebgelände

1) Bernard, l. c., zit. n. Houdaille et Semichon, l. c. p. 256.
2) Cit. n. Houdaille et Semichon, l. c. p. 257.
3) Houdaille et Semichon, Mesure de la vitesse d'attaque spécifique des diverses variétés de calcaire. (Progrès agr. et vit. T. I. 1893. p. 496.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Böden von 70 Proz. Dolomit, und die auf ihnen stockenden Reben zeigen keine Chlorose. In gleicher Weise bestätigen dies die Beobachtungen von Jeanjean, Déjardin, Chauzit und Roux[1]).

Nach Gavoty[2]) sollen die Magnesiasalze sogar eine antichlorosierende Wirkung ausüben, und eine Besprengung der gelben Blätter selbst mit einer schwachen Magnesialösung soll ihr Ergrünen hervorrufen; ein gewisses Quantum Magnesia in einem Kalkboden soll die chlorotische Wirkung desselben aufheben.

Die Verminderung der Auflösungsschnelligkeit bei gewissen Kalkarten scheint nach Houdaille und Semichon[3]) hervorgerufen zu werden durch die Gegenwart von Fremdkörpern, welche die einzelnen Kalkpartikelchen umgeben und sie teilweise dem Einfluß der Säure entziehen. Manche Kalke enthalten auch Einschlüsse von Silicium, wodurch sie weniger angreifbar werden. Der in Prismen kristallisierende Aragonit widersteht der Auflösung durch Säuren viel mehr als das in Rhomboedern kristallisierende Kalkkarbonat.

Von Montdésir[4]) wurde die Weinsäure als Anzeiger des Grades der Assimilierbarkeit des Kalkes durch die Pflanzen angegeben. In der Weinsäure besitzen alle Kalke nur eine begrenzte Auflösung. Bei Einwirkung dieser Säure auf den Kalk entstehen Kohlensäure und neutraler weinsauerer Kalk, der sich teilweise auf der Oberfläche der Kalkpartikel niederschlägt und so allmählich eine weitere Auflösung des Kalkes hindert. Je größer die einzelnen Kalkpartikelchen sind, je kleiner also ihre Gesamtoberfläche ist, desto eher wird dieser Zustand erreicht sein. Durch die Vergleichung des Grades der Auflösbarkeit des Kalkes eines Bodens durch Weinsäure mit dem Gesamtkalkgehalt des Bodens, den man mittels Salzsäure findet, wird nach Houdaille und Semichon[5]) ein brauchbarer Beurteilungsmodus geschaffen für die Angriffsoberfläche der Kalkpartikel in den verschiedenen Böden. Je größer die Beziehungen zwischen dem durch Weinsäure konstatierten Kalkgehalt und dem totalen Kalk sind, desto mehr soll dieser Kalk geeignet sein, die Chlorose hervorzurufen. Für Kalkböden mit über 25 Proz. Kalkkarbonat soll sich diese Methode sehr brauchbar erwiesen haben.

Durch die Untersuchungen von Schloesing[6]) über die Kohlensäure des Bodens wurde festgestellt, daß das Wasser in Böden, die Kalkkarbonat enthalten, bei Gegenwart einer bestimmten Menge von Kohlensäure sowohl einen Teil der feinen Kohlensäure, wie auch des neutralen Kalkkarbonates und des Calciumbikarbonates auflöst. Die Menge des gelösten neutralen Kalkkarbonates ist nur gering; man kann annehmen, daß sie nicht viel mehr als 13 mg pro Liter bei 16° C beträgt. Weit größer ist die Menge des gelösten Karbonates in Form des Bikarbonates. Diese beträgt für eine Kohlensäurespannung des Bodens von 0,0033 Atmosphären bei 16° C bereits 124 mg, bei einer Spannung von 0,0500 Atmosphären erreicht sie 347 mg. Bei einem mittleren Gehalt der Bodenluft von 1 Proz. Kohlensäure beträgt sie 196 mg.

Da der kohlensaure Kalk in den Kalkböden fast stets im Ueber-

---

1) Roux, l. c. p. 365.
2) Zit. n. Roux, l. c. p. 365.
3) Houdaille et Semichon, Etude de l'état physique de calcaire. (Ann. de l'école nat. d'agricole de Montpellier. T. VIII. 1895. p. 283.)
4) Zit. n. Houdaille et Semichon, l. c. p. 283.
5) l. c. p. 299.
6) Schloesing, Th., Contribution à la chemie agricole. 1888.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schuß vorhanden ist, so würde gemäß diesen Ausführungen der Reichtum der Bodenwässer an aufgelöstem Calciumbikarbonat in enger Abhängigkeit von dem Gehalt der Bodenluft an eingeschlossener Kohlensäure sein. Dem physikalischen Zustande des Kalkes könnte also nach dieser Richtung nur ein geringer direkter Einfluß eingeräumt werden. Der von Houdaille und Semichon eingeführte Begriff der spezifischen Schnelligkeit der Auflösung der verschiedenen Kalkarten genügt keineswegs, um die hier hervortretende Kontroverse zu beseitigen. Der Grund, daß die Böden mit sehr hohem Kalkgehalt, namentlich wenn dieser in feinster Verteilung und feinster Form im Boden enthalten ist, mehr chlorosierend wirken, liegt nicht, wie die genannten Forscher annehmen, in der leichteren und schnelleren Auflösbarkeit dieser Kalke in dem Bodenwasser, sondern meines Erachtens vornehmlich darin, daß solche Kalkböden mehr die physikalischen Eigenschaften der Tonböden mit all ihren nachteiligen Einflüssen auf das Wurzelsystem der Reben und die daraus entspringenden Konsequenzen annehmen. Doch es kann andererseits nicht von der Hand gewiesen werden, daß der feinen Verteilung des Kalkes im Boden und dessen Feinheitsgrad eine gewisse Bedeutung für die Größe seiner Kontaktfläche mit den Wurzeln zukommt. Zugleich mit diesem Faktor und der Leichtlöslichkeit der Kalke in Säuren vermehrt sich wahrscheinlich bis zu einem gewissen Grade die Kalkaufnahme der Reben. Es liegt mir fern, die Methode von Houdaille und Semichon in ihrer praktischen Verwendbarkeit anzuzweifeln, ihre wissenschaftliche Begründung ist aber meiner Ansicht nach in der gegebenen Form nicht haltbar.

Der Kohlensäuregehalt der Bodenatmosphäre nimmt mit der Feinheit der Bodenteilchen zu[1]). Die Ursache dieser Erscheinung ist nach Wollny[2]) in der durch die Korngröße der Bodenpartikelchen herbeigeführten Veränderung der Feuchtigkeits-, Temperatur- und Permeabilitätsverhältnisse des Bodens zu suchen. Der Kohlensäuregehalt der Bodenluft steigt und fällt mit der Temperatur, und er ist um so größer, je mehr Wasser der Boden enthält. Das hat jedoch eine Grenze. Sobald der Wassergehalt so groß wird, daß der Zerfall der organischen Substanzen wegen Sauerstoffmangel beeinträchtigt wird, vermindert sich die Kohlensäureproduktion. Gerade wie der Ton[3]) wird auch ein Kalkboden mit äußerst feinen Kalkpartikelchen in hohem Grade den Austritt der Kohlensäure erschweren, während deren Eindringen ungehindert erfolgen kann.

Wenn wir die äußerst geringe Löslichkeit des kohlensauren Kalkes in Wasser, sogar im kohlensauren, in Betracht ziehen und die viel bedeutendere Löslichkeit des Bikarbonates in gleicher Weise berücksichtigen, so muß a priori dem letzteren in erster Linie die chlorosierende Wirkung der Kalkböden zugeschrieben werden. Die Löslichkeit des Bikarbonates in Wasser ist aber abhängig von dem Prozentsatz der vorhandenen Kohlensäure in der Bodenatmosphäre. Dieser wiederum wird vorwiegend bedingt durch den Gehalt der Böden an Humus und die Feinheit der einzelnen Bodenteilchen, durch die ihrerseits, wie wir schon gesehen haben, die Permeabilitäts- und Feuchtigkeitsverhältnisse der Böden in hohem Maße beeinflußt werden. Diese Faktoren: Humus,

1) Wollny, Forsch. a. d. Geb. d. Agrikulturphysik. 1881. Heft 4.
2) Wollny, l. c. p. 19.
3) Siehe Moeller, J., Jahresber. der Agrikulturchemie. 1879. p. 39.

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Feinheit der Bodenpartikelchen und größere Feuchtigkeit müßten sonach in Kalkböden einen chloroseverschärfenden Einfluß ausüben. Und in der Tat ist dem so.

Die Mehrzahl der chlorosierenden Böden der Charente enthalten neben Kalk bedeutende Humusmengen, die nach den Analysen von Chauzit[1]) von 0,412 bis 0,803 Proz. schwanken. Auch die Beobachtung Cazeaux-Cazalets[2]), daß der Stallmist die Erzeugung der Chlorose begünstige, findet hier eine gute Erklärung und dient zur Stütze unserer Anschauung.

Die Verwesung und damit die Kohlensäureproduktion der humösen Stoffe wird durch den Kalk ungemein gefördert. Sehr deutlich geht das aus den Versuchen von Petersen[3]) hervor. Dieser bestimmte in verschiedenen Bodenarten das Fortschreiten des Verwesungsprozesses aus der Menge der erzeugten Kohlensäure mit und ohne Zusatz von kohlensaurem Kalk. In 16 Tagen fand er in einem Tonboden mit 1,98 Proz. Humus und 36 Proz. seiner wasserfassenden Kraft an Wassergehalt 0,07 Proz. vom Gewicht des trockenen Bodens Kohlensäure, unter denselben Verhältnissen aber bei Zusatz von $^1/_2$ Proz. kohlensaurem Kalk in Form von Mergel produzierte derselbe Boden 0,20 Proz. Kohlensäure oder pro Liter trockenen Bodens ohne Zusatz von Kalk 0,9153 g, mit Zusatz von $^1/_2$ Proz. Kalk 2,6167 g. Eine Laubholzerde mit 58 Proz. Humus und 30 Proz. Wassergehalt der wasserhaltenden Kraft ergab nach 16 Tagen mit einem Zusatz von 1 Proz. kohlensaurem Kalk 3,3860 g, ohne Kalkzusatz 0,8911 g CO_2 pro Liter trockenen Bodens; bei Zusatz von 3 Proz. Kalk 5,3476 g, die kalklose Vergleichserde nur 0,9664 g. Die auf diesem Wege gebildete Kohlensäure geht, wie Pettenkofer[4]) gezeigt hat, in die Grundluft und das Grundwasser über.

Verfolgen wir unsern Gedankengang weiter, so muß, gemäß der Tatsache, daß eine Verminderung der Permeabilität der Böden den Kohlensäuregehalt derselben erhöht, diese Eigenschaft in Kalkböden das Erscheinen der Chlorose begünstigen. Viele Belege aus der Literatur bestätigen dies.

Von vornherein können hier, wenn auch nicht in ihrem Sinne, die Versuchsergebnisse von Houdaille und Semichon herangezogen werden, aus denen, wie wir ja schon wissen, hervorgeht, daß je feiner die einzelnen Bestandteile des Kalkes sind, und je leichter er in kleinste Partikelchen zerfällt, um so größer seine Chlorose erzeugende Kraft ist. Die weichen, feinen Kalke der Kreide- und Tertiärformation erzeugen eine viel intensivere Chlorose als die harten und wenig leicht zerfallenden Kalkarten der Juraformation[5]).

Kober[6]) führt den Gehalt einiger Bodenarten an Kalk an, in denen die sonst sehr leicht chlorosierende Riparia gut gedeiht. Eine solche Bodenprobe aus Monastero bei Aquileja zeigt in der Krume 38,4 Proz., bei 50 cm Tiefe 39,2 Proz., bei 1 m Tiefe 76 Proz. $CaCO_3$. Einige Bodenproben von Neustadt, Sollenan, Loebersdorf, Kottingbrunn enthielten im Obergrunde 17 Proz., bei 50 cm Tiefe 32,8 Proz. und im

1) Zit. nach Houdaille et Semichon, l. c. p. 324.
2) Zit. nach Roux, l. c. p. 372.
3) Petersen, Landw. Versuchsstationen. Bd. XIII. p. 155.
4) Pettenkofer, Sitzber. der kgl. Bayr. Akad. d. Wiss. 1871; zit. nach Popper, Zeitschr. f. Biol. Bd. XV. 1879. p. 589.
5) Houdaille et Semichon, l. c. p. 262.
6) Kober, Die Weinlaube. Jahrg. XXX. 1898. p. 50.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untergrunde 72 Proz., eine andere oben 9,6 Proz., bei 50 cm Tiefe 14 Proz. und im Untergrunde 66,4 Proz. kohlensauren Kalk. Der Kalk war hier aber neben der Feinerde auch noch in Form gröberer Gesteinsreste vorhanden, und der Boden deshalb sehr durchlässig.

Viala und Ravaz[1]) weisen gleichfalls darauf hin, daß der physikalische Zustand des Kalkes von offenbarem Einfluß auf die Intensität der Chlorose ist. Diese Beispiele mögen genügen.

Eine Erhöhung der Temperatur steigert den Kohlensäuregehalt des Bodens. Die Chlorose der Reben entwickelt sich aber erfahrungsgemäß erst in der wärmeren Jahreszeit, während in der kühleren Frühjahrsperiode die Blätter zumeist noch gesundes Kolorit zeigen. Die Wirkung der höheren Temperatur bei der Entwickelung der Kohlensäure ist an eine genügende Menge Feuchtigkeit des Bodens gebunden, und die letztere wiederum bleibt bei niedriger Temperatur ohne Einfluß[2]).

Wärme, Feuchtigkeit, Humus und Feinheit der Bodenpartikel sind in diesen Betrachtungen nur in ihrem Einfluß auf die Erzeugung der Kohlensäure in dem Boden gewürdigt worden. Es kommt diesen Faktoren bei der Entstehung der Chlorose, wie wir nachfolgend sehen werden, noch eine andere und zwar, wie mir scheint, noch weit wichtigere Bedeutung zu.

Durch viele Jahre fortgesetzte, empirische Beobachtungen bin ich zu der Ansicht gekommen, daß der übermäßigen Feuchtigkeit in den kalkhaltigen Böden in erster Linie die Entstehung der Chlorose zuzuschreiben ist. Ich habe deshalb bei meinen nun folgenden Untersuchungen und Versuchen diesem ätiologischen Momente eine vorwiegende Bedeutung eingeräumt.

(Fortsetzung folgt.)

1) Viala et Ravaz, Les vignes americaines. 1892; zit. nach Roux, l. c. p. 255.
2) Vergl. Wollny l. c.

Inhalt.

Harrison, F. C. and **Barlow, B.**, The nodule organism of the Leguminosae — its isolation, cultivation, identification and commercial application. (Conclusion), p. 426.

Huss, Harald, Zur Charakteristik einer neuen, aus sterilisierter Dosenmilch isolierten Bakterie „Plectridium novum". (Schluß), p. 420.

Koestler, Guido, Der Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien. (Schluß), p. 394.

Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. (Schluß), p. 385.

Molz, Emil, Untersuchungen über die Chlorose der Reben, p. 461.

Müller, Wilhelm, Zur Kenntnis der Euphorbia-bewohnenden Melampsoren, p. 441.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Abgeschlossen am 17. September 1907.

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 16|18.

Nachdruck verboten.

Eine neue Aspergillus-Art und ihre praktische Anwendung.

Von K. Okazaki.
Vorstand der Pharmaceutischen Fabrik von Yenjō, Somei, Sugamo, Tokio (Japan).

Mit 2 Tafeln.

Von den Enzymen, welche niedere Pilze ausscheiden, wurde in neuerer Zeit die Diastase von Aspergillus Oryzae seitens der Aerzte in ausgedehnte Anwendung gezogen, trotzdem aber ist bis jetzt kein kräftiger peptonisierendes Enzympräparat, welches durch Anwendung von Schimmelpilzen hergestellt wird, bekannt. Um eine geeignete Pilzart zur Bereitung eines solchen Enzympräparates aufzufinden, habe ich mich viele Jahre hindurch mit Kulturversuchen verschiedener Pilze beschäftigt. Zufällig gelang es mir, auf verfaultem Reiskoji eine weiße Aspergillus-Art zu finden, welche bei Strichkultur die Gelatine stets prompt verflüssigte. Auch konnte das in üblicher Weise von den Kulturen hergestellte Enzympräparat die Eiweißstoffe sehr kräftig verflüssigen. Diese Pilzart besitzt mit Aspergillus albus Wilh. viele Aehnlichkeit, kann aber wegen ihrer anderen Merkmale als eine Species nova gelten.

Die Herren Doktoren K. Yagi, M. Hida, K. Saito und U. Yamagata hatten die Freundlichkeit, die Eigenschaften des Pilzes zu untersuchen und auch sie konnten die stark peptonisierende Kraft desselben bestätigen. Diese Herren, denen ich sehr zu Dank verpflichtet bin, schlugen vor, dem erwähnten Pilze den Namen „Aspergillus Okazakii“ zu geben.

Das Verfahren der Bereitung von Enzym aus dieser Pilzart ist durch das japanische Patentamt unter No. 11 461 geschützt, und ich beeilte mich, dasselbe auch in anderen Staaten patentieren zu lassen. Das betreffende Präparat wird nun in der hiesigen Fabrik in großen Quantitäten hergestellt und kommt im Handel unter dem Namen „Digestin“ vor. Der Verkauf des „Digestin“ ist Herrn Yenjō übertragen und kann bei Honcho III, Nihonbashiku, Tokio, bezogen werden.

Im folgenden gehe ich zur Beschreibung des Aspergillus Okazakii n. sp. über.

I. Aspergillus Okazakii n. sp.

1. Morphologisches.

Das erste Stadium der Entwickelung des Pilzes auf irgend einem guten Nährsubstrate beginnt mit einem sterilen, schwach verästelten, sich ausbreitenden Mycelium, aus welchem nicht selten ein kurzes Luftmycelium emporwächst. Die Decke erscheint schneeweiß und bei langem Stehen wird die Kultur schwefelgelb.

Von den Mycelien aus entwickelt sich der Konidienträger zu einem Seitenzweig und erweitert sich, nach etwaigem Wachstum, schließlich zu einem Köpfchen. Der Stiel nimmt in der Dicke, von der Basis nach dem Köpfchen zu, allmählich zu, um schließlich in eine Blase überzugehen. Die Konidienträger sind nicht stets gerade, sondern im allgemeinen stellenweise wellig gebogen. Der völlig ausgewachsene Stiel

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hat die Länge von 200—500 μ und die Breite von 8—12 μ. Anfangs sieht man im ganzen Konidienträger keine Querwand, während beim Aelterwerden eine oder mehrere Septa erscheinen. Die Wand des Stieles ist 2—3 μ dick, glatt oder aber auch rauhwarzig.

Die Blase ist ganz kugelförmig, mißt 12—40 μ im Durchmesser und steht aufrecht oder nickend auf dem Stiele. Die Blasenwand ist stets farblos und die Oberfläche der Blasen zeigt nach dem Abfallen der Sterigmen polygonale Vertiefungen. Auf der Blase stehen zahlreiche, radial ausstrahlende, schlanke, primäre Sterigmen mit je 4 zierlichen sekundären. Die primären Sterigmen sind keulenförmig, von verschiedener Größe und mit abgerundetem Scheitel. Die Länge der primären Sterigmen beträgt etwa 16—20 μ, die obere Keulenanschwellung ist 6—8 μ breit. Die sekundären Sterigmen sind ebenfalls keulenförmig, 8—14 μ lang und 3,6 μ breit, am Scheitel derselben sitzen lange Konidienketten. Die Sterigmen sind in der Regel farblos und hyalin, aber unter Umständen zeigen sie gelbliche Färbung[1]).

Die Konidien kommen stets in langen Ketten vor. Sie sind stets kugelförmig und messen 2,5—5,4 μ im Durchmesser. In jüngeren Stadien findet man kleine, ovale, glatte und farblose Konidien, welche durch zarte, aber deutlich erscheinende „Zwischenzellen" ineinander gekettet sind. Die Konidien sind sehr dickwandig. Vor der Keimung quellen dieselben enorm auf, sodann erfolgt die Keimung an einer oder mehreren Stellen durch Sprengen der Membran und Hervortreten des Keimschlauches, welch letzterer alsbald mit einer Querwand versehen wird.

Schlauchfrüchte konnte ich weder auf flüssigem, noch auf festem Boden beobachten.

Die vegetativen Hyphen sind zart und mit Querwänden versehen. Die Dicke der Hyphen bleibt meist gleichmäßig (2—4 μ) und selten kommen stellenweise blasenförmige Anschwellungen vor. Sie bleiben stets hell und farblos.

2. Physiologisches.

Diese Aspergillus-Art wächst stets besser auf festem Substrat als in flüssigem Nährboden. Von festen Substraten sind Reis, Weizen, Bohnen, Brot, Batate, Kartoffel, Kojiagar und -gelatine als die günstigsten zu nennen. Auf ihnen wächst die Art üppig mit reichlicher Konidienbildung und kompakter Mycelentwickelung. Selbst in gewöhnlicher Bouillonpeptongelatine kann der Pilz gut gedeihen.

In den flüssigen Nährböden ist das Wachstum des Pilzes kümmerlich. Selbst auf Kojidekokt oder Bierwürze wächst die Art sehr träge, indem kleine Mycelinselchen hier und da hervortreten. In künstlich hergestellten Nährlösungen, welche außer den nötigen anorganischen Salzen noch Kohlenstoff- und Stickstoffquellen enthalten, entstehen nur submerse Mycelkolonieen, die später auf dem Flüssigkeitsniveau weiße Deckinselchen bilden können. Der Pilz gedeiht üppig in einer Lösung mit Glukose, Saccharose, Maltose, sehr kümmerlich aber in denjenigen mit Stärkekleister oder Laktose[2]).

Bei den stickstoffhaltigen Nährsubstanzen wurde gefunden, daß Pepton (Witte) und Eiweiß das Wachstum des Pilzes begünstigen; Aminosäuren, Säureamide und Ammoniumsalze zählen als Nährstoffe nach ihrer Reihenfolge[3]).

1) Die Sterigmen und Konidienträger zeigen oft verschiedene Abweichungen im Baue. Diese anormalen Formen sind in Figur 7 abgebildet.

2) Asparagin als N-Quelle.

3) Glukose als C-Quelle.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die optimale Wachstumstemperatur ist 25—28° C, doch kann der Pilz auch bei einer Temperatur von 15—30° C wohl wachsen.

Um das Enzym dieser Pilzart näher zu untersuchen, wurde die auf gedämpfter Reiskleie entwickelte Pilzmasse mit einer gewissen Menge Wasser im aseptischen Zustande digestiert. Diese wurde dann filtriert und von dem Filtrate das Enzym in üblicher Weise mit Alkohol abgefällt und der entstandene Niederschlag durch wiederholtes Lösen und Fällen möglichst gereinigt. Dieses Enzympräparat untersuchte ich auf sein Verhalten gegen verschiedene Substanzen.

Die wässerige Lösung dieses Präparats bildet aus Stärkekleister eine Menge reduzierender Zucker, invertiert die Saccharose und löst die Mannase, aber sie entfaltet keine Wirkung auf Inulin und Laktose. Es ist also sicher, daß dieser Pilz Amylase, Invertase und Seminase ausscheiden kann.

Beim Vorhandensein des Wasserstoffsuperoxyds wird alkoholische Guajakharzlösung durch das Enzym alsbald schön blau gefärbt, auch braust Wasserstoffsuperoxyd beim Mischen desselben mit der Enzymlösung sehr stark auf. Dieses ist der Nachweis für das Vorhandensein der Katalase und Peroxydase. Der Versuch zeigte uns dagegen, daß Tyrosinase durch den Pilz nicht gebildet wird.

Um die proteolytische Wirkung des Enzyms klarzustellen, bediente ich mich des koagulierten Eiweißstoffes, Fibrin, Gelatine. Diese wurden sehr schnell verflüssigt und zeigte sich dabei deutliche Biuretreaktion [1]).

Alkoholgärung wurde in der Bierwürze oder in anderen zuckerhaltigen Nährlösungen nicht beobachtet.

Als eine wichtige Tatsache ist zu erwähnen, daß die Kulturen dieser Pilzart auf der Reiskleie oder den Bohnen ein besonderes Aroma hervorbringen. Mit näheren diesbezüglichen Untersuchungen werde ich mich ein anderes Mal beschäftigen.

3. Affinität.

Unter den weißen Aspergillus-Arten ist der Aspergillus albus Wilh. mit unserer Art in einen näheren Vergleich zu bringen. Wie wir aus den Beschreibungen des Aspergillus albus ersehen [2]), unterscheidet er sich von unserer Art dadurch, daß die Konidien von Aspergillus albus kleiner als diejenigen des A. Okazakii sind. Auch besitzt der Konidienträger des A. Okazakii nicht selten eine rauhwarzige Beschaffenheit, bei A. albus dagegen ist er stets glatt. Besonders bemerkenswert bei A. Okazakii ist die stark peptonisierende Wirkung. Ueberdies ändert sich die Farbe des Konidienrasens bei A. Okazakii von schneeweiß zu schwefelgelb, wogegen bei A. albus sie stets weiß zu bleiben scheint.

4. Diagnose.

Konidienrasen schneeweiß, später schwefelgelb, mit zahlreichen, kurzen, zwergigen Konidienträgern; Stiel farblos, gerade oder gebogen, dickwandig, Wand glatt oder rauhwarzig. Blase kugelförmig, scharf abgesetzt, allseitig von dicht gedrängt stehenden, radial ausstrahlenden, verzweigten Sterigmen besetzt; primäre keulenförmig, sekundäre zierlich,

1) Die vergleichende Kulturreihe am Gelatinestrich zeigt uns, daß die Gelatineverflüssigung bei unserer Art stets prompt und schneller, als bei anderen Aspergillus-Arten, wie A. Wentii, Oryzae, flavus, Batatae etc. vor sich geht.

2) Wehmer, C., Die Pizgattung Aspergillus. 1901. p. 97.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in der Regel zu 4. Reife Konidien kugelig, weiß, derb- und glattwandig. Bei Ketten der jüngeren Konidien finden sich vielfach zarte „Zwischenzellen“; Hyphen farblos, variabel dick. Perithecien und Sklerotien nicht gefunden.

Optimale Temperatur des Wachstums 25—28° C. Gedeiht wohl auf gedämpftem Reis, Batate, Reiskleie, Brot, Gelatine, Agar etc. Amylase, Invertase, Seminase, Peroxydase, Katalase und ein starkes proteolytisches Enzym vorhanden.

Dimensionen: Konidienträger 200—500 μ lang, 8—12 μ breit, Stielwand 2—3 μ dick, Köpfchendurchmesser 80—100 μ, Blase 12—40 μ im Durchmesser, primäre Sterigmen 16—20 μ lang und 6—8 μ breit, sekundäre Sterigmen 8—14 μ lang und 3,6 μ breit, Konidien 2,5—5,4 μ, Hyphendurchmesser 2—4 μ.

II. Bereitung des Enzympräparates („Digestin“).

Der Ausgangspunkt des ganzen Herstellungsprozesses ist das Koji. Zum Herstellen desselben bedient man sich in der Regel einer kleinen Menge Konidien des Aspergillus Okazakii. Nach innigem Mischen der letzteren mit einer großen Menge gedämpfter Reiskleie, welche hier sehr leicht zu bekommen ist, wird das Gemisch sofort auf kleine, mit Randleisten versehene, aus Holz der Cryptomeria japonica hergestellte Brettchen verteilt, und werden die mit dieser Mischung versehenen Brettchen an beiden Seiten der sogenannten Kojikammer parallel nebeneinander gelegt.

Die Masse auf den Brettchen rührt man täglich um. Nach 4 bis 5-tägigem Stehen bedeckt sich die ganze Masse mit weißen, kriechenden Mycelien, welche bald massenhaft Konidien von derselben Farbe ausbilden. Um ein gutes Koji und also ein kräftiges Enzympräparat zu erzeugen, ist es für den Praktiker dringend nötig, die Temperatur der Kojikammer auf einem bestimmten Grad zu halten.

Ist das Koji genügend reif geworden, so schreitet man sofort zur Extraktion des Enzyms. Für dieselbe wird das Koji mit einer gewissen Menge Wasser gemischt und mehrmals mit einem Rührscheit tüchtig umgerührt. Auf diese Weise läßt man die Mischung einen Tag lang stehen und hat nachher den flüssigen Teil zu filtrieren. Dem Filtrat gießt man etwa eine dreifache Menge absoluten Alkohols zu, wodurch ein flockiger, weißer Niederschlag entsteht. Der entstandene Niederschlag wird in üblicher Weise gereinigt und im Vakuum getrocknet. Das gewonnene Enzym wird sobald wie möglich fein pulverisiert und kommt dasselbe so im Handel vor.

Mai 1907.

Tafelerklärung.

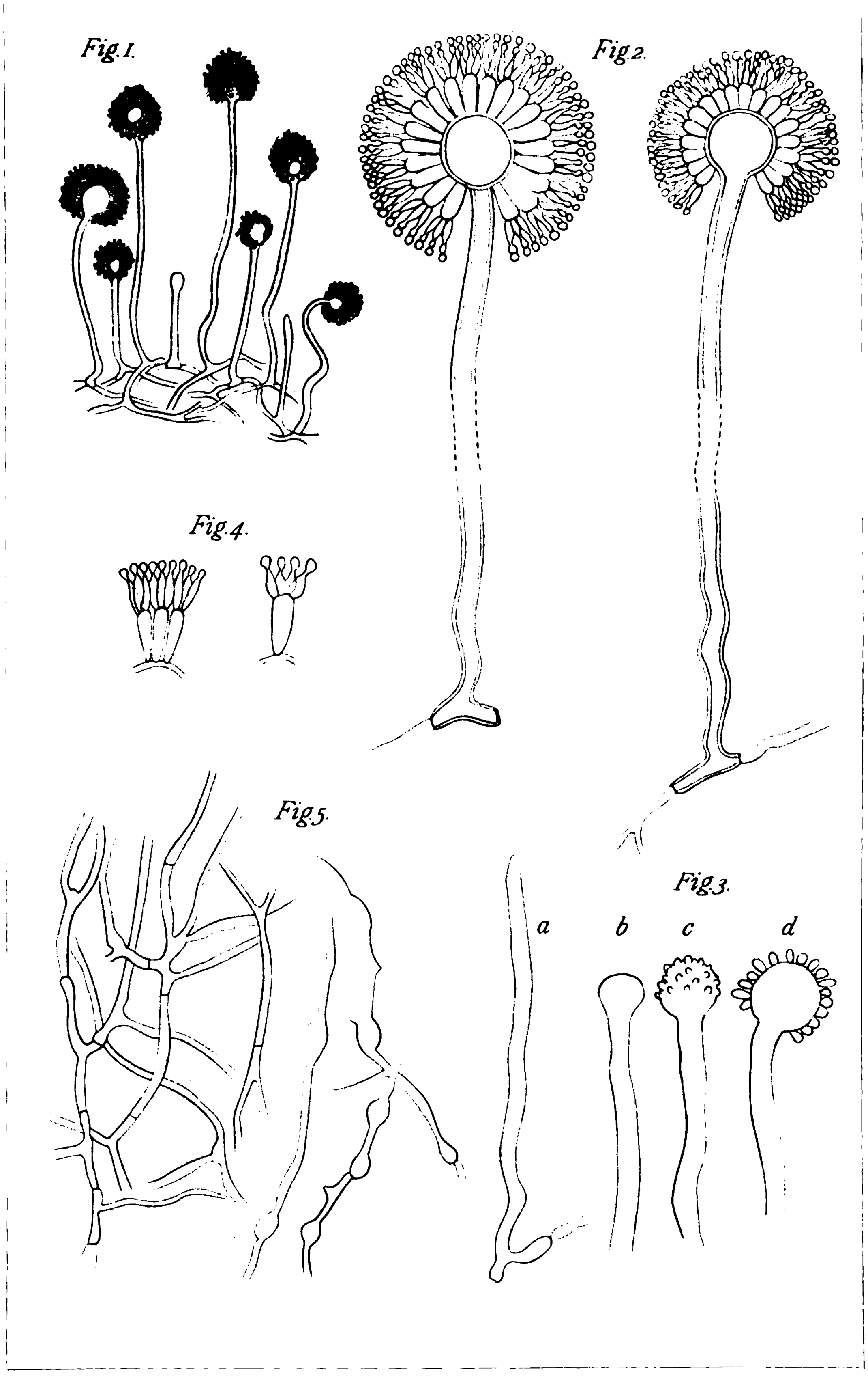
Tafel I.

Fig. 1 (× 125). Rasen mit Konidienträger (halb schematisch).
Fig. 2 (× 400). Konidienträger.
Fig. 3 (× 400). a—d Entwickelungsstadien der Konidienträger.
Fig. 4 (× 560). Sterigmen.
Fig. 5 (× 400). Hyphen. Rechts mit blasigen Anschwellungen.

Tafel II.

Fig. 6 (× 400). a—e Anormal geformte Konidienträger.
Fig. 7 (× 560). a—c Ein Teil des Konidienträgers. b Wand mit rauhen Warzen, c Stiel mit Querwänden.
Fig. 8 (× 900). Konidien.
Fig. 9 (× 900). a—d Keimungsstadien der Konidien.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Okazaki del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

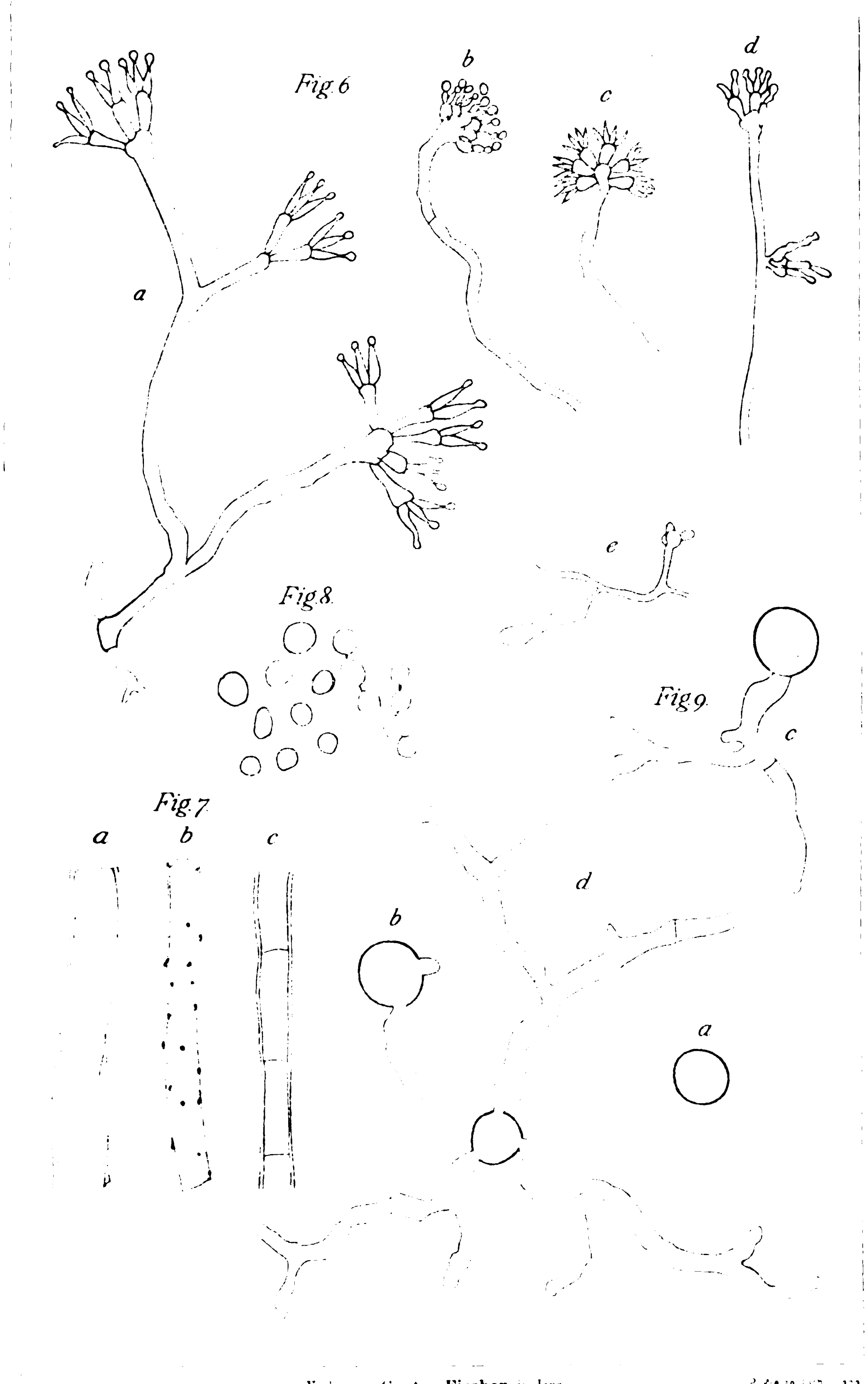
P. Weise, Lith., Jena.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY



Okazaki del. Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Ueber die physiologische Katalyse.

(Antwort an Th. Bokorny.)

Von **G. Bredig.**

Mit 2 Figuren.

Nachdem ich einen in der Chemiker-Zeitung[1]) von Herrn Th. Bokorny gegen meine Arbeiten gerichteten Angriff ebenda[2]) widerlegt habe, werde ich von befreundeter Seite darauf aufmerksam gemacht, daß Herr Bo. diesen Angriff an anderer Stelle, d. h. in diesem Centralblatt[3]), fortsetzt. Da der Aufsatz Bokornys in diesem Centralblatte mangels jeden Zitates meiner Arbeiten[4]) geeignet ist, in dem Leser ganz falsche Vorstellungen über dieselben zu erzeugen, sei es mir gestattet, meine in der Chemiker-Zeitung gebrachte Entgegnung auch hier den Lesern dieser Zeitschrift zugänglich zu machen und im Anschluß daran die Haltlosigkeit auch des erneuten Angriffes Bokornys genügend zu beleuchten.

Meine erste Abwehr (l. c.) lautete:

„In einem Aufsatze von Th. Bokorny[5]) wird behauptet, man begehe einen Fehler, wenn man von „anorganischen Fermenten" spreche. Da diese Behauptung sich wohl hauptsächlich gegen meine Arbeiten richtet, so sei es mir gestattet, mich über diesen Punkt und die dafür geltend gemachten Gründe auszusprechen. Zunächst konstruiert Bokorny einen Unterschied von den organischen Enzymen dadurch, daß es bei anorganischen Fermenten „einen lebenden und toten Zustand" nicht gebe, wenigstens nicht in dem eigentlichen Sinne des Wortes. Meines Erachtens und nach Ansicht hervorragender Enzymforscher gibt es auch bei den organischen Enzymen „einen lebenden und toten Zustand" „im eigentlichen Sinne des Wortes" nicht[6]). Es kann sein, daß hierin Bokorny anderer Meinung ist, ich gestatte mir aber, mich der gegenteiligen Ansicht Buchners u. A. anzuschließen. Also dieser Einwand gegen die Bezeichnung „anorganisches Ferment" bleibt mindestens Ansichtssache. Direkt unrichtig ist aber Bokornys Unterscheidung, daß ein durch „Gift" unwirksam gemachtes organisches Ferment nicht regeneriert werden könne, im Gegensatz zum anorganischen Ferment, wie Platin. Es wird dabei völlig übersehen, daß auch Fermente, wie Katalase (Schoenbein, Senter u. a.) und Zymase (Buchner), welche gerade so durch Blausäure vergiftet werden wie Platinsol, ebenfalls bei Entfernung der Blausäure regeneriert werden[7]). Daß die Platingifte durchweg mit den Fermentgiften identisch sein müssen, habe ich nie behauptet[8]), und das ist auch für die Analogie

---

1) Chem.-Ztg. Cöthen 1907. p. 139.
2) Ebenda, einige Nummern später.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 737.
4) Ich muß ein solches Verfahren, welches durch Verschweigen der Zitate dem Leser es erschwert, auch die Ansicht des Angegriffenen kennen zu lernen, zum mindesten als bedauerlich bezeichnen.
5) Chem.-Ztg. 1907. p. 139.
6) Vergl. Buchner, E. und Rapp, R., D. chem. Ges. Ber. Bd. XXXII. 1899. p. 127; Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chem. 6. Aufl. p. 11.
7) Vergl. Buchner, D. chem. Ges. Ber. Bd. XXX. 1897. p. 2672; Bredig und v. Berneck, Zeitschr. physikal. Chem. Bd. XXXI. 1899. p. 328; Bredig und Ikeda, ebenda. Bd. XXXVII. 1901. p. 8; Senter, G., ebenda. Bd. XLIV. 1903. p. 308 und Bd. LI. 1905. p. 673.
8) Vergl. Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. XXXVII. 1901. p. 67.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

gar nicht nötig. Das Gemeinsame ist eben die Erscheinung der „Vergiftung“ überhaupt, daß also äußerst geringe Mengen von gewissen Zusätzen die Aktivität sowohl von anorganischen wie von organischen Enzymen stark herabsetzen können. Bekanntlich wirkt ja auch nicht einmal in der organischen Fermentchemie dasselbe Gift immer auf alle organischen Fermente. So wirken z. B. Spuren von Blausäure nur giftig auf Katalase und Zymase und lassen Pepsin, Diastase u. s. w. ungeschwächt. Obwohl ich, wie gesagt, nur auf die Tatsache der „Vergiftung“, nicht aber auf durchgängige Identität des Giftes beim Platin und bei den Fermenten Gewicht lege, sei übrigens doch erwähnt, daß nach Bredig und Ikeda (a. a. O. p. 66) die Protoplasmagifte Hydroxylamin und salpetrige Säure, auf welche Bokorny nach Loew hinweist, auch die Platinkatalyse des H_2O_2 schwächen. Einen Stoff aber, welcher, wie der von Bokorny als Fermentgift genannte Alkohol, erst in Dosen von 10 Proz. stark lähmend wirkt, würde man (im Gegensatz zu der bereits in der Verdünnung von einer Million Liter pro g-Mol. wirksamen Blausäure)[1]) kaum mehr als „Gift“ im eigentlichen Sinne bezeichnen können.

Etwas unverständlich ist ferner Bokornys Bemerkung, daß „eine Unterscheidung der Gifte in solche, die durch Salzbildung, durch Substitution, durch Oxydation“ wirken, „bei Platin keinen Sinn“ habe. Warum sollen denn anorganische Fermente, wie Gold oder Platin, von dem „Gifte“ nicht in Salze oder Oxydationsprodukte oder komplexe Verbindungen übergeführt werden? In der Tat geschieht das sogar[2]). Meines Erachtens hat sogar die Unterscheidung bei den organischen Fermenten noch weniger Sinn, solange wir nicht besser über deren chemische Natur unterrichtet sind als bisher, denn auch Bokorny und Loew können uns dafür doch vorläufig nur Hypothesen bieten. Begriffe wie das „lebende Plasma“ und „aktives Protein“ und „spezifischer Schwingungszustand“ sind ja doch vorläufig in dieser Frage sicherlich nicht fruchtbarer gewesen als die Kontaktchemie.

Nicht so hypothetisch aber waren meines Erachtens die einfachen, experimentellen, recht ausgedehnten Untersuchungen von mir und meinen Mitarbeitern[3]) über die Frage, wieweit die katalytischen, d. h. reaktionsbeschleunigenden Eigenschaften der Fermente sich in der anorganischen und nichtorganisierten Welt mit ihrer ganzen Feinheit, Empfindlichkeit und Mannigfaltigkeit wiederfinden lassen, und für diese von Berzelius, Schoenbein, Ostwald u. A. wiederholt aufgeworfene Frage glaube ich, doch immerhin zum Teil einige Beiträge im bejahenden Sinne gebracht zu haben. Ich schloß meine Monographie „Anorganische Fermente“ mit den Worten:

„Zum Schlusse brauche ich mich wohl nicht dagegen zu verwahren, als wolle ich hier irgend eine geheimnisvolle Identität zwischen den Metallen und den Enzymen aufstellen. Aber wenn man sich auch vor

1) Vergl. Senter, Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. XLIV. 1903. p. 310.
2) Vergl. Bredig und Ikeda, Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. XXXVII. 1901. p. 15, 64; Bredig, Anorganische Fermente. Leipzig 1901. p. 72, 82, 86; Bredig, D. chem. Ges. Ber. Bd. XXXIX. 1906. p. 1760; Kastle und Loevenhart, Amer. Chem. Journ. Vol. XXIX. 1903. p. 397, 563; Glaser, Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. IX. 1903. p. 15.
3) Vergl. Berneck, Zeitschr. physikal. Chem. Bd. XXXI. 1899. p. 258; Ikeda, ebenda. Bd. XXXVII. 1901. p. 1; Reinders, ebenda. p. 323; Ernst, ebenda. p. 448; Brode, ebenda. p. 257; Stern, ebenda. Bd. L. 1905. p. 513; Walton, ebenda. Bd. XLVII. 1904. p. 185; Fraenkel, Chemische Kinetik des Diazoessigesters. [Diss.] Heidelberg 1906; v. Antropoff und Teletow, Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. XII. 1906. p. 581.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uebertreibungen[1]) der allerdings überraschenden zahlreichen Analogieen zu hüten hat, so muß man doch die kolloidalen Metallsole (und wahrscheinlich auch Sole von MnO_2 u. s. w.) in vielen Beziehungen wenigstens als anorganische Modelle der organischen Enzyme betrachten. Diese Modelleigenschaften erhalten die kolloidalen Metalllösungen (und einige Superoxyde) hauptsächlich wegen der folgenden Eigenschaften: 1) wegen ihrer starken katalytischen Fähigkeiten; 2) wegen ihres kolloidalen, oft sehr labilen Zustandes mit ungeheurer Oberflächenentwickelung, welcher oft irreversible Veränderungen erleiden kann; 3) wegen ihrer Fähigkeit, gewisse Stoffe chemisch durch Komplexbildung u. s. w. oder durch Adsorption zu binden."

Mit dem Ausspruche, daß es in der Biologie eine Reihe von Dingen gebe, die nicht im Reagenzglase studiert und erkannt werden können, will Bokorny wohl schwerlich etwas Neues sagen, ebensowenig wie mit den allgemeinen Wendungen über die besonderen „zweckmäßigen" Fähigkeiten des Protoplasmas. Diese aber verdankt es doch, wenigstens im vegetativen Teil, im wesentlichen Vorgängen, die bisher überhaupt nicht anders als kontaktchemisch, also mit gekoppelten Reaktionen, mit Enzym- und Katalysatorreaktionen erklärt werden können. Es ist richtig, Kontaktchemie erklärt hier nicht alles, aber vorderhand chemisch doch immerhin erheblich mehr[2]), als die unbestimmten Sentenzen vom „aktiven Protein", den „Protoplasmasplittern" und den „chemischen Molekül- und Wärmeschwingungen".

Soweit mein Aufsatz in der Chemiker-Zeitung.

Nachdem ich nun oben gezeigt hatte, daß Bokornys Unterscheidung der Enzym-„Vergiftung" von derjenigen der anorganischen Katalysatoren zum kleinen Teile auf Verschiedenheit der Auffassungen, vor allem aber auf der direkten Ignorierung der experimentellen Tatsache beruht, daß auch Enzyme oder „Protoplasmasplitter", wie er sie nennt, nach Vergiftungen (z. B. durch Blausäure) regeneriert werden können, suchte er sich jetzt in diesem Centralblatte dadurch zu retten, daß er jene geradezu typischen Analogiefälle (bei Katalase und Zymase) für „Ausnahmen" erklärt, ohne freilich Gründe dafür angeben zu können. Herr Bokorny irrt aber auch jetzt noch, denn die umkehrbare „Vergiftung" der Enzyme (da dieselben nach Bo. dem „lebenden Protoplasma" verwandt sein sollen, wird er mir wohl dieses Wort hier noch gestatten) durch Blausäure ist längst durchaus keine Ausnahme mehr, wie Herr Bo. als erfahrener Physiologe wissen sollte. So hat Tammann[3]) gezeigt, daß auch die Spaltungsprodukte des Saligenins oder entstehende Säuren die Enzymwirkung des Emulsins lähmen, daß aber nach Entfernung dieser lähmenden „Gifte", die hier in gewissen Fällen sogar aus dem Substrat selbst entstehen, die Enzymwirkung auch hier wieder eintritt.

---

1) Den Inhalt einer von mir ganz unabhängig entstandenen Arbeit von Schade über alkoholische Gärung als anorganische Katalyse zitiert Bokorny, leider ohne zu beachten, daß dieselbe bereits von Buchner, Meisenheimer und Schade in wesentlichen Punkten für irrig erklärt ist (D. chem. Ges. Ber. Bd. XXXIX. 1906. p. 4217).

2) Vergl. Hoeber, R., Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. 2. Aufl. Leipzig 1906; Herz, W., Lehre von der Reaktionsbeschleunigung (Sammlung Ahrens. Bd. XI. Heft 3); Ostwald, W., Ueber Katalyse. [Vortrag.] Leipzig 1902; Bredig, Elemente der chemischen Kinetik mit besonderer Berücksichtigung der Katalyse und Fermentwirkung (in Spiro und Ashers Ergebnissen der Physiologie. Bd. I. 1902. p. 134); siehe besonders die schöne Darstellung bei Ostwald, Leitlinien der Chemie. p. 275—308.

3) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XVI. p. 271.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ebenso hat Senter[1]) in seinen schönen Arbeiten über die Katalase des Blutes nachgewiesen, daß Alkalizusätze über ein gewisses Maximum hinaus die Enzymwirkung der Katalase allmählich unwirksam machen, daß aber nach Neutralisierung des Alkalis die ursprüngliche Aktivität wieder eintrat.

Sollte nun Herr Bo. zur Stütze seiner Behauptung, „daß die echten Fermente und das Plasma für immer unwirksam werden, wenn man sie vergiftet", auch die eben genannten neuen Beispiele der Regenerierbarkeit gelähmter Enzyme wieder zu den „Ausnahmen" rechnen, wobei mir freilich die Grenze der angeblichen „Ausnahmen" nicht recht ersichtlich ist, so mag ihm das Zeugnis eines anderen, sicherlich sehr erfahrenen Physiologen genügen. M. Jacoby[2]) schreibt in seinen schönen Arbeiten „Zur Kenntnis der Fermente und Antifermente": „Die Wirkung von Bredigs Paralysatoren, die nur so lange wirksam sind, wie sie mit dem Ferment in Reaktion stehen, die sich aber jederzeit von dem Ferment trennen lassen, steht heute nicht mehr im schroffen Gegensatz zu der Antifermentwirkung, da wir die Fermente auch ohne weiteres wieder nach ihrer Reaktion mit den Antifermenten zu neuer Wirksamkeit erwecken können." Was Jacoby dann über den Einfluß des „Milieu" auf die Fermentwirkung sagt, steht in bester Analogie zu demselben Einfluß bei der gewöhnlichen Katalyse, wie z. B. aus dem bekannten Einflusse des Lösungsmittels[3]) hervorgeht, den auch ich wiederholt betont habe.

Nachdem ich hier also gezeigt habe, daß der Physiologe Bokorny sich wieder mit seinem Angriffe in Widerspruch zu den experimentellen Tatsachen der Enzymchemie gesetzt hat, muß ich ferner auch die in diesem Centralblatte gegebene unrichtige Belehrung des Chemikers Bokorny ablehnen, daß „Platin zu den am wenigsten reagierfähigen Stoffen, ebenso das Gold" gehöre. Diese Behauptung zeigt, daß der Kritiker Bo. die Chemie der Edelmetalle nicht genügend kennt und sich auch nicht die Mühe genommen hat, sie auf Grund der von mir angegebenen Literatur[4]) kennen zu lernen. Hätte sich Herr Bo. nur ein einziges Mal die Mühe genommen, eine kolloidale Goldlösung mit sehr verdünntem Cyankalium zu versetzen, so würde er von der chemischen Reaktionsfähigkeit des Goldes durch die Entfärbung der Flüssigkeit drastisch überzeugt worden sein, selbst wenn ihm die Tatsache unbekannt war, daß heute bereits in der Großtechnik viele Tausende von Tonnen Golderzes mit relativ sehr verdünnten Cyankaliumlösungen (0,01—0,08 Proz.) chemisch ausgelaugt werden[5]). Ebenso ignoriert Herr Bo. noch immer die ihm bereits genannte Arbeit von Glaser (l. c.), in der es wörtlich über die Wirkung von Cyankalium heißt: „Das Platin zersetzt bei den gegebenen Verhältnissen Wasser in alkalischer Lösung, verhält sich also wie ein unedles Metall."

---

1) l. c. Bd. XLIV. p. 302; Bd. LI. p. 681.

2) Biochem. Zeitschr. Bd. IV. 1907. p. 474.

3) Vergl. Hoeber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 2. Aufl. 1906. p. 396.

4) Siehe z. B. Ikeda, l. c. Bd. XXXVII. 1901. p. 15; außerdem L. Woehler, Ber. d. d. chem. Ges. Bd. XXXVI. 1903. p. 3500; Engler und Woehler, Zeitschr. f. anorgan. Chemie. Bd. XXIX. 1901. p. 5.

5) Vergl. v. Uslar-Erlwein, Cyanidprozesse zur Goldgewinnung. Halle 1903. (Monogr. üb. angew. Elektrochemie. Bd. VII.)

Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Mein Gegner weist ferner auf die von ihm gefundene[1]), übrigens bei Kenntnis der Enzymchemie und der alten medizinischen Regel von der Maximaldosis der Gifte ziemlich triviale Tatsache hin, daß zur Vergiftung einer bestimmten Menge lebender Hefe eine bestimmte Menge Gift gehört, die natürlich bei den einzelnen Giftarten verschieden ist[2]). Er stellt dann ferner die Frage: „Wo findet sich aber der Nachweis, daß bei der ‚Platinvergiftung' ähnliche quantitative Verhältnisse bestehen?"

Hat denn Herr Bokorny unsere Arbeiten, die er so ungnädig kritisiert und den Lesern dieses Centralblattes in ganz falschem Lichte zeigt, nicht gelesen? Der verlangte Nachweis findet sich doch an vielen Stellen[3]) derselben, ja meine Abhandlung mit K. Ikeda[4]) beschäftigt sich in zahlreichen Messungsreihen, wie sie Herr Bokorny mit gleicher quantitativer Ausführlichkeit schwerlich angestellt hat, fast ausschließlich mit diesem Gegenstande. Herr Bo. hätte dort unter vielen anderen z. B. auch folgende, durch beistehende Fig. 1 veranschaulichte Tabelle (15) quantitativer Versuche über die Geschwindigkeit der katalytischen H_2O_2-Zersetzung mit derselben Menge Platin (0,0000103 g-Atom Pt pro Liter) gefunden:

Blausäurezusatz:	0	5.10^{-8}	1.10^{-7}	2.10^{-7}	5.10^{-7} Mol. pro Liter
Zeit halber Zersetzung des H_2O_2 durch Pt-Kolloid	7,5	15,4	22,0	40,9	89 Minuten

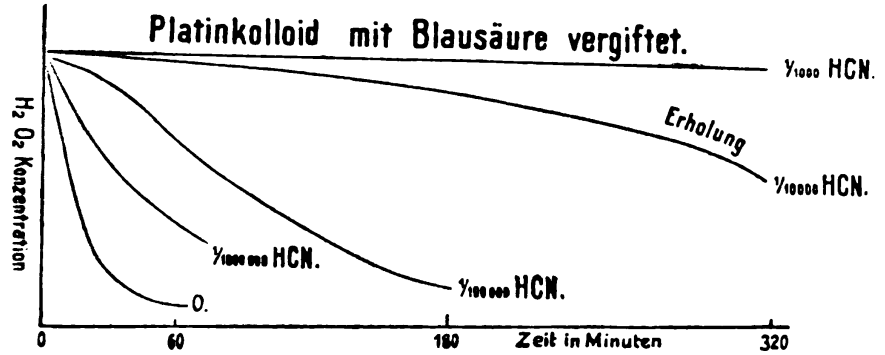


Fig. 1.

Man sieht also deutlich, wie die zur H_2O_2-Zersetzung nötige Zeit, also auch die Lähmung der Platinkatalyse quantitativ zunimmt mit steigender Menge der zugesetzten Blausäure, genau wie bei dem Blutferment nach Senter (l. c.). Das Gleiche wird durch Fig. 1 mit Blausäure und Fig. 2 mit Jodcyan als „Gift" dargestellt. Man sieht auch aus diesen, daß der katalytische Zerfall des H_2O_2 mit derselben Platinmenge, der in Kurve O ohne Giftzusatz ein rascher ist, mit steigenden Mengen des Giftzusatzes (Konzentration des „Giftes" in Fig. 1 und 2 an jeder Kurve angegeben in Mol. pro Liter) immer langsamer wird. Wir haben sogar eine empirische,

1) Pflügers Arch. d. ges. Physiol. Bd. CXIV. 1906. p. 535.

2) Dadurch, daß er, wie zu erwarten war, findet, daß gewisse Mengen Gift, welche hinreichen, das Leben der Hefe zu töten, ihre Gärkraft nicht vernichten, widerlegt Bo., wie schon Buchner betont (Biochem. Ztschr. Bd. IV. 1907. p. 230), sich selbst, denn er hat Leben und Enzymwirkung getrennt.

3) Vergl. z. B. v. Berneck, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XXXI. 1899. p. 330—331. — Reinders, W., ebenda. Bd. XXXVII. 1901. p. 335.

4) Ikeda, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XXXVII. 1901. p. 1.

Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

quantitativ recht gut stimmende Formel für die „vergiftende“ Wirkung steigender Mengen Blausäure und anderer „Platingifte“ sowie eine charakteristische „Giftzahl“ aufgestellt, ohne auf sie besonderen Wert zu legen. Solche „quantitative Verhältnisse“ zwischen Giftmenge und der katalytischen Wirkung haben wir in unseren von Herrn Bo. kritisierten, aber offenbar nicht genügend gekannten Arbeiten und ich ebenso in meiner zusammenfassenden Monographie bereits viele in Versuchstabellen und Diagrammen angegeben. Herrn Bo.'s Frage war also bereits 6 bis 8 Jahre früher erledigt, bevor er sie befremdlicherweise gestellt hat. Aber freilich, die Blausäure soll ja nach Bo. eine

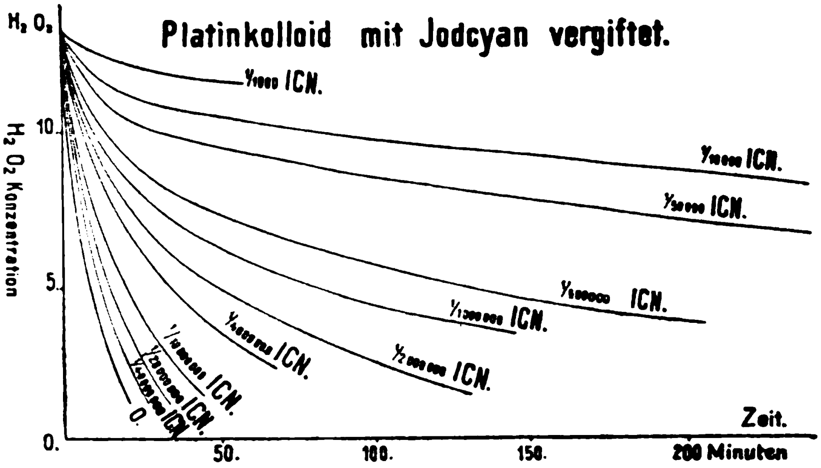


Fig. 2.

„Ausnahme“ sein. Ich habe aber mit meinen Mitarbeitern auch zahlreiche andere Stoffe, wie Sublimat, Jod, Jodcyan, Kohlenoxyd, Oxalsäure, Salzsäure etc. als katalytische „Gifte“ bekanntlich in vielen Fällen festgestellt und den Zusammenhang zwischen ihrer „Giftwirkung“ und ihrer Menge gemessen. Herr Bokorny schreibt ferner: „Ob aber hierbei eine chemische Bindung und damit völlige Umwandlung des Katalysators erfolgt, möchte Verf. (Bokorny) bezweifeln.“ Daß die chemische Umsetzung zwischen Gift und Katalysator bei der Lähmung der Katalyse stets eine vollständige sein muß, habe ich nie behauptet, das Gegenteil hätte Herr Bo. bei gewissenhafterer Lektüre unserer Arbeiten leicht gefunden, so z. B. p. 72, 82 und 67, besonders p. 86—87 meiner Monographie. Dort heißt es: „Die Platinoberfläche wird chemisch oder mechanisch verunreinigt, d. h. durch eine anders geartete, unwirksame Schicht bedeckt.“ Natürlich ist es dann nicht nötig, daß alles Platin vom „Gifte“ chemisch verwandelt wird, da schon äußerst dünne indifferente Schichten[1]) von sogenannter Molekulardimension genügen, um die chemische Aktivität fester Stoffe vollständig zu verdecken[2]).

Durch einen einfachen, von Weinmayr[3]) und mir angegebenen Versuch kann sich Herr Bokorny von dieser Tatsache leicht überzeugen: Verdünntes Wasserstoffsuperoxyd werde über einen größeren

1) Siehe z. B. auch Kastle und Loewenhart, l. c., wo mir die Verff. gerade im Gegenteil, aber auch unberechtigterweise vorwerfen, ich hätte diesen Punkt nicht beachtet.

2) Vergl. hierzu die große Literatur über „Passivität“ der Metalle oder als Gegenstück: Ann. d. Physik, Boltzmannband. 1904. p. 839.

3) Mit Weinmayr, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XLII. 1903. p. 605.

Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tropfen Quecksilber geschichtet, alsbald wird an seiner Oberfläche nach Thénard heftige Katalyse beginnen. Nunmehr braucht Herr Bo. nur eine Spur Kochsalz in die Lösung zu bringen, um die Katalyse zu „vergiften“. Ich bitte nun Herrn Bo., sich dabei die Oberfläche des Quecksilbers einmal etwas genauer als meine Abhandlungen anzusehen: Die „chemische Bindung“ des „vergifteten“ Katalysators durch das „Gift“, nämlich durch das Kochsalzchlor an der Oberfläche unter Bildung einer Kalomelhaut, wird ihm dann nicht mehr zweifelhaft bleiben, obwohl darunter noch sehr viel unangegriffenes, aber mechanisch jetzt außer Aktion gesetztes Metall liegen bleibt. Ebenso braucht auch Schwefelwasserstoff das Platin mit Schwefel oder Sulfür nur in molekularer Schicht bei der „Vergiftung“ zu bedecken und nicht vollständig chemisch umzusetzen, wie Bokorny verlangt. Uebrigens heißt es immerhin in einer unserer Arbeiten [1]) ausdrücklich: „Daß es sich hier offenbar um chemische Wirkung zwischen dem zugesetzten S und dem Palladium handelt, geht daraus hervor, daß zur Erzielung von erheblichen Lähmungserscheinungen die zugesetzte Menge S nach unseren Versuchen um so größer sein mußte, je größer die Menge des vorhandenen Palladiums war.“ Also auch hier hat Herr Bokorny den von ihm vermißten Nachweis der quantitativen Verhältnisse wieder übersehen.

Was für Quecksilber- und Palladiumkatalyse gilt, gilt mutatis mutandis auch für Platinkatalyse.

Dem Chemiker Bokorny ist z. B. auch unsere Angabe [2]) (1899!) entgangen, daß nachweislich sehr fein verteiltes Platin in verdünnter Salzsäure löslich ist, auch übersieht er die längst bekannte Tatsache, daß Wasserstoffsuperoxyd in konzentrierten Lösungen aus Salzsäure Chlor frei macht, das bekanntlich auch auf fein verteiltes Platin zu wirken vermag. Was in konzentrierten Lösungen geschieht, ist gewiß, natürlich in entsprechend vermindertem Grade, nach dem aus bekannten chemischen Massengesetzen folgenden Prinzipe der Stetigkeit auch in verdünnten Salzsäurelösungen immer noch der Fall, und in der Tat haben wir ja die von Bo. ins Treffen geführte Salzsäure auch nicht unter die stärksten Platingifte gerechnet.

Ebenso glaubt Herr Bokorny nicht an eine chemische Wirkung der Oxalsäure auf das Platin, selbst nicht in Gegenwart eines Oxydationsmittels wie H_2O_2, obwohl die Oxalsäure bekanntlich leicht das enorme Platingift Kohlenoxyd abspaltet und Kohlenoxydverbindungen z. B. des Platinchlorürs wohlbekannt [3]), also wohl auch für ein Platinoxyd durchaus möglich sind. Auch die Bildung eines Platinoxalates halte ich nicht für unmöglich, besonders da nach den schönen Arbeiten L. Woehlers [4]), ganz im Gegensatz zu der veralteten Anschauung Bokornys, fein verteiltes Platin ziemlich leicht, bereits sogar durch gewöhnlichen Sauerstoff, oxydierbar ist.

Was für Platinmohr gilt, muß erst recht für die noch viel feinere Verteilung meiner Kolloidlösungen gelten, in welchen die Platinstäubchen ultramikroskopisch klein, mit einem Durchmesser [5]) von

1) Fortner, M., Ber. d. D. chem. Ges. Bd. XXXVII. 1904. p. 809.

2) Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XXXI. 1899. p. 272.

3) Cfr. Dammer, Handb. d. anorg. Chem. Bd. III. p. 794. Siehe auch Lunge und Harbeck, Zeitschr. f. anorg. Chem. Bd. XVI. p. 25; Akunoff, ebenda, Bd. XXIV. 1901. p. 191. Ebenso sind Hydroxylaminverbindungen des Platins bekannt, worauf ich in meiner Monographie ebenfalls hingewiesen habe.

4) Woehler, L., Ber. d. D. chem. Ges. Bd. XXXVI. 1905. p. 3500.

5) Vergl. Zsigmondy, R., Zur Erkenntnis der Kolloide. Jena 1903. p. 147.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ca. 0,044 μ, also kleiner als eine Lichtwellenlänge[1]) sind, wie ich schon vor Entdeckung des Ultramikroskops betont habe. Bei Zusatz eines „Platingiftes“, also eines chemisch angreifenden oder eine Deckschicht erzeugenden Stoffes, werden natürlich zuerst die feinsten Stäubchen gelöst oder sonstwie chemisch angegriffen oder bedeckt, während die gröberen Teilchen beständiger sind, daher tritt eben zuweilen nur eine „Schwächung“, nicht eine völlige Lähmung durch das „Gift“ ein, obwohl wir auch diese oft genug erhalten haben.

Nachdem ich im Vorstehenden gezeigt habe, daß ganz im Gegensatze zu den Behauptungen Bokornys

1) die reversible Blausäurevergiftung der Enzyme und der anorganischen Katalysatoren keine „Ausnahme“ ist,
2) der von ihm vermißte Beweis eines quantitativen Verhältnisses zwischen der Größe der „Platinvergiftung“ und der Giftmenge, sowie zwischen inaktiviertem „anorganischen Ferment“ und Giftmenge (und zwar mindestens so gut wie der seine für Hefe etc.) längst erbracht ist,
3) die chemische Angreifbarkeit der Edelmetalle in feinverteiltem Zustande im Gegensatz zu Bokornys veralteten Anschauungen ebenfalls wohlbekannt ist,

möchte ich noch einige weniger wesentliche, aber prinzipielle Differenzen mit meinem Gegner austragen:

Herr Bo. findet es „unerhört“, daß ich von „Platingiften“ spreche. Nun ist zunächst dieser Ausdruck durchaus nicht allein von mir geprägt worden, sondern auch der hervorragende Technologe R. Knietsch[2]) fühlte sich, unabhängig von mir, in seinem bekannten Vortrage vor der Deutschen chemischen Gesellschaft versucht, von einer „giftartigen“ Wirkung des Arsens etc. auf den technischen Platinkontaktprozeß bei der SO_3-Fabrikation zu sprechen und in der Technik ist der Ausdruck „Kontaktgifte“ durchaus üblich geworden. Die frappanten lähmenden Wirkungen, welche äußerst kleine Mengen gewisser chemischer Substanzen auf die vorher mächtigen Wirkungen relativ großer Systeme ausüben, müssen auch den Widerstrebenden aufs lebhafteste an die Giftwirkungen z. B. kleiner Arsen- oder Blausäuremengen auf den Organismus erinnern und die Empfindung dieser Analogie wird von vielen Physiologen geteilt[3]). Ich war also mindestens ebenso, wie Herr Bokorny und sein Meister O. Loew von der chemischen „Verwandtschaft“ sprechen, obwohl sie die Vereinigung z. B. von Sauerstoff und Wasserstoff doch gewiß auch nicht als „Lebensvorgänge“ auffassen werden, berechtigt, von einer „Vergiftung“ der chemischen katalytischen Platinwirkung zu reden, wie man von der „Vergiftung“ der nach Berzelius, Ostwald u. A. ebenfalls chemisch-katalytischen Enzymwirkung spricht. Ebenso pflegt ja auch z. B. der Physiker von der „Ermüdung“ lichtelektrischer Systeme zu sprechen, um eine Analogie zu bezeichnen, obwohl eine lichtempfindliche Natriumelektrode oder Selenzelle gewiß nichts „Lebendes“ ist. Ich wollte und durfte sogar viel weiter gehen, denn ich konnte ja gerade in meinem Falle die ungeheuer

---

1) Bredig und Berneck, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XXXI. 1899. p. 272.
2) Ber. d. D. chem. Ges. Bd. XXXIV. 1901. p. 4080.
3) Vergl. z. B. Schade, Die Bedeutung der Katalyse in der Medizin. Kiel 1907.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weitgehenden Analogieen zwischen den organischen Katalysatorwirkungen und den Fermentreaktionen experimentell nachweisen und mußte und wollte sie mit einem kurzen Worte drastisch kennzeichnen. Vor Uebertreibungen[1]) dieser Analogieen habe ich doch, wie aus dem oben zitierten Schlußworte meines Werkes deutlich hervorgeht, selbst eindringlich genug gewarnt. Wenn man die Enzyme nicht mit ultra-vitalistischer Mystik als lebend ansieht, wie Herr Bokorny, sondern sie nüchtern als chemische, wenn auch noch zum Teil unerforschte Systeme betrachtet, so sehe ich in der experimentell nachgewiesenen und in obigem Ausdrucke ausgeprägten Analogie zwischen den Wirkungslähmungen der Enzyme und der Katalysatoren durchaus nichts „Unerhörtes". Das Wort „Vergiftung" kann nur bei denen Unheil stiften, die bei den Enzymen absolut etwas „Lebendes" in einem weißen, aus (soviel man weiß) bekannten Elementen bestehenden, amorphen Pulver sehen wollen, welches doch durchaus nicht „labiler" und „irritabler" ist, wie irgend ein anderer instabiler, synthetisch erhältlicher Körper der organischen oder anorganischen Chemie[2]), und welches durchaus ähnliche und zuweilen sogar *gleiche* katalytische Wirkungen hat wie die Stoffe bekannter und herstellbarer Zusammensetzung, die man als Katalysatoren kennt. Auch diejenigen werden die von mir behauptete Analogie nicht begreifen können, die in der Wirkung der Blausäure und des Kohlenoxydes auf den Organismus oder auf das Platin etc. durchaus etwas besonders Geheimnisvolles, der Chemie absolut Unzugängliches sehen wollen. Soviel ich weiß sind weder die Biologen noch die Chemiker darin mit Herrn Bokorny einverstanden. Eher könnte man noch eine chemische Wirkung des Giftes auf den Organismus als auf das Metall für fraglich halten, während *Bo.* merkwürdigerweise die umgekehrte Unterscheidung machen will.

Ich widersetze mich durchaus nicht einem gesunden, empirischen Vitalismus und halte es für möglich, daß in wirklich lebenden, teleologisch funktionierenden Organismen noch besondere Gesetze wirksam sein können, die wir zur Zeit nicht kennen, ja daß dort möglicherweise sogar die heute bekannten großen Prinzipien der Chemie und Physik erhebliche Modifikationen erleiden oder sogar zur Erklärung allein unzureichend bleiben können[3]). Daß aber ein gewöhnliches Pepsin- oder Invertinpräparat, das im Reagenzglas sich in vielen Dingen ganz analog benimmt, wie auch andere chemische Katalysatoren, z. B. meine Platin- oder Goldkolloide, etwas „Lebendes" sei, darin kann ich zum mindesten keinen förderlichen Fortschritt unserer Erkenntnis finden, sondern ich würde diesen mystisch-spekulativen, ultravitalistischen (oder soll ich in Anbetracht der famosen Loew-Bokornyschen Wärmeschwingungen

---

1) Gerade Herr Bokorny übertreibt die katalytische Analogie zwischen Platin und Fermenten ins Ungeheuerliche, wenn er aus meinen Arbeiten herauslesen will, daß Fermente bei hohen Alkalikonzentrationen ebenso beständig sein müßten, wie Platin. Eine derartige Interpretation übersieht natürlich das Wesentliche der Analogie zu Gunsten spezieller unwesentlicher Verschiedenheiten. Nach der Logik Bokornys müßte man z. B. auch die Analogie im Säurecharakter von Cyansäure und Schwefelsäure deshalb leugnen, weil beim Ansäuern ihrer Salze die erstere Säure zersetzt wird, die andere aber nicht.

2) Auch in dieser Beziehung übertreibt eben Bokorny die von mir aufgestellte Analogie, indem er auf lebende Hefe exemplifiziert. Ich habe nur von der Analogie der aus Organismen extrahierbaren Stoffe, der Enzyme, mit den Katalysatoren gesprochen. Vergl. auch E. Buchner, Biochem. Ztschr. Bd. IV. 1907. p. 230.

3) Vergl. hierüber besonders die interessanten Ausführungen von Hans Driesch, Süddeutsche Monatshefte. Bd. I. 1904. p. 5.

Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

und Atombewegungen lieber sagen ultramechanistischen?) Verzicht auf jede weitere chemische Vergleichung so analoger Vorgänge wie Katalyse und Enzymwirkung für einen bedauerlichen methodischen Fehler halten. Mit der von mir aufgestellten Analogie zwischen den chemisch wirkenden „anorganischen Fermenten" und den meiner Meinung nach ebenfalls leblosen und daher zunächst ebenfalls chemisch zu betrachtenden Enzymen wollte ich im Anschluß an Berzelius, Schönbein, Ostwald u. A. energisch auf einen methodischen Weg hinweisen[1]) auf dem wir ein unbekanntes aber immerhin doch zweifellos noch chemisches Land experimentell betreten sollen. Ich habe nirgends behauptet, daß dieser Weg der einzige ist, auch die biologische Beobachtung durchaus nicht verworfen, wohl aber kann ich mit ziemlicher Sicherheit sagen, daß der von den Herren Loew und Bokorny mit großer Emphase empfohlene Weg der Spekulationen von der „Ueberführung von thermischer in kinetische chemische Energie"[2]) bereits am Eingang völlig im Nebel liegt, obwohl ich durchaus kein Gegner einer exakten, kinetischen Atomistik bin und die exakten Beziehungen zwischen chemischer und thermischer Energie[3]) und die experimentelle Methodik ihrer Bestimmung mir aus eigener Erfahrung[4]) als Physikochemiker nicht ganz unbekannt sind.

Wie sollen wir denn Loews und Bokornys „Atombewegungen von bedeutender Amplitude etc." theoretisch oder experimentell überhaupt bearbeiten? Herr Bokorny irrt[5]) gewaltig, wenn er glaubt, daß ein physikalisch, chemisch und physiologisch genügend gebildeter Leser in seinen und Loews unklaren Wendungen[6]) vom „lebenden Proteinstoff", von der „Labilität der Plasmaproteine" und von der sogenannten „in den Thermogenen aufgespeicherten potentiellen Wärmeenergie" bei genauerer Prüfung irgend einen vernünftigen Inhalt wird finden können. Der Leser wird dann lieber doch mit mir den nüchternen experimentellen Vergleich der chemischen Wirkung der Enzyme mit derjenigen der bekannten Katalysatoren auf physikochemischem und präparativem Wege für eine erheblich klarere Aufgabe halten.

Der Ausdruck „Anorganische Fermente" ist für mich eine Art von Feldparole gewesen, und diese soll er auch fernerhin bleiben[7]).

Heidelberg, Chem. Univers.-Laboratorium,
Juli 1907.

---

1) Dieser Weg ist auch bereits von einer erheblichen Anzahl sehr „erfahrener Physiologen" (Bokorny, l. c. p. 742) betreten worden, wie der Leser aus den schönen Lehrbüchern von Hoeber, Hamburger, Oppenheimer, Arrhenius u. A. entnehmen kann.

2) Siehe Loew, O., Die chemische Energie der lebenden Zellen. Stuttgart 1906. p. 108. — Bokorny l. c. p. 743.

3) Vergl. z. B. van't Hoff, Ostwalds Klassiker No. 110. Nernst, Theoret. Chemie.

4) Vergl. z. B. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XVI. 1895. p. 453. — Knüpffer, Bd. XXVI. 1898. p. 255.

5) Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XVIII. 1901. p. 743.

6) Loew, O., l. c. p. 131.

7) Vergl. auch meinen demnächst in der „Biochem. Zeitschr." erscheinenden Vortrag: „Altes und Neues von der Katalyse".

Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Die anaërobe Bindung des Wasserstoffes durch Mikroorganismen.

[Aus dem mikrobiologischen Laboratorium der Rieselfelder der Stadt Moskau.]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von Dr. **J. Nikitinsky,** Moskau.

Während unserer Versuche über die Ausscheidung der Kohlensäure bei Zersetzungsprozessen des Moskauer Abwassers bei anaëroben Bedingungen (bei Durchleiten des Wasserstoffes) haben wir mehrmals eine Verminderung des Druckes in Kulturkolben beobachtet, wenn diese, mit Wasserstoff gefüllt und hermetisch verschlossen einige Zeit stehen blieben. Dabei wurde das Wasser aus der nächstliegenden Waschflasche bei nachfolgender Verbindung des Kolbens mit einem Kohlensäurebestimmungsapparat in den Kulturkolben zurückgesaugt. Diese zufällig beobachtete Erscheinung regte uns an, dieselbe etwas näher und genauer zu präzisieren.

Für die ersten orientierenden Versuche haben wir dabei folgende Untersuchungsmethode gewählt: Es wurde ein Kolben oder eine Flasche von bekanntem Rauminhalte mit einer bestimmten Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt; der Hals der Flasche wurde mit einem Korkpfropfen geschlossen; letzterer war mit 3 Oeffnungen versehen, durch welche 3 Glasröhrchen, für das Manometer, für Gasableitung und Zuleitung in das Innere des Kolbens führen.

Nach Einstellen der Glasröhrchen wurde der Pfropfen mit einer bei Erkaltung hart werdenden Kittschicht (der Kitt bestand aus Siegellack und venetianischem Terpentin) begossen, die Kittschicht selbst aber noch mit einer Quecksilberschicht bedeckt.

Nach einer genügenden Durchleitung des Wasserstoffgases durch die Kulturkolben und die darin enthaltene Flüssigkeit wurden die das Gas zu- und abführenden Röhrchen abgeschmolzen und der ganze Apparat bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Von Zeit zu Zeit wurden Manometerablesungen gemacht, aus welchen dann, mit Berücksichtigung der Temperatur, des Atmosphärendruckes und der Wasserdampftension, der absolute Druck (bezogen auf 0° C), unter welchem das Gas sich im Kolben befand, berechnet wurde.

In den folgenden Tabellen bezeichnen wir durch h den Manometerstand, durch B den Barometerstand, durch t die Temperatur bei Ablesung in Graden C und durch P den daraus berechneten absoluten Druck.

Das Herabsinken des absoluten Druckes zeigt eine Bindung des Wasserstoffes. Vorausgesetzt, daß in die Kulturkolbenatmosphäre kein anderes Gas statt des gebundenen Wasserstoffes aus der Flüssigkeit sich ausscheidet (letzteres kann man durch Gasanalyse kontrollieren), zeigt diese Untersuchungsmethode unmittelbar den quantitativen Gang des Wasserstoffbindungsprozesses. Bei den unten beschriebenen Vorversuchen sind aber die Gasanalysen nicht ausgeführt.

Versuch I.

Drei Kolben von ungefähr $2^1/_4$ Liter Inhalt wurden mit je 1 Liter frischer, konzentrierter Kanalisationsflüssigkeit gefüllt; der erste (No. 1) blieb ohne jeden Zusatz, der zweite (No. 2) erhielt 5 g Quecksilber-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

chlorid und der dritte (No. 3) 5 g Thymol. Nach 5-stündigem Durchleiten eines starken Stromes des gut gereinigten Wasserstoffes wurden alle 3 Kolben bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Resultate waren, wie folgt:

Datum	Versuchsdauer Tage	B	t °C	No. 1 Abwasser			No. 2 Abw. + 5 g $HgCl_2$			No. 3 Abw. + 5 g Thymol		
				h	P	Wasserstoff gebund.	h	P	Wasserstoff gebund.	h	P	Wasserstoff gebund.
		mm		mm	mm	Proz.	mm	mm	Proz.	mm	mm	Proz.
13. März	—	751	19,0	+ 5	687,1	—	+ 1	683,4	—	+ 3	685,2	—
20. „	7	746	15,8	— 75	613,8	10,7	— 2	687,5	—	— 5	684,7	—
22. „	9	753	13,0	— 134	578,5	15,8	— 12	694,5	—	— 17	689,7	—
26. „	13	761	14,1	— 210	510,4	25,7	— 22	688,8	—	— 19	691,7	—
29. „	16	752	12,6	— 238	479,4	30,2	— 16	691,1	—	— 15	692,1	—
2. April	20	742	14,0	Beendigt		—	+ 4	695,9	—	+ 2	694,0	—

Am 1. April hielt der Verschluß des Kolbens No. 1 nicht mehr aus und das Manometer fiel auf Null herab.

Der absolute Druck (P) fiel, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, in Kolben No. 1 in 16 Tagen von 687,1 auf 479,4 mm, so daß die Verminderung des Druckes gleich 207,7 mm ist, was 30,2 Proz. des gebundenen Wasserstoffes ergibt.

Da das Gesamtvolumen des Gases in dem Kolben No. 1 gleich 1221 ccm war, so ist die in 16 Tagen gebundene Wasserstoffmenge nicht weniger als 369 ccm im ganzen oder 23 ccm täglich.

Bei Anwesenheit von Antiseptika, Quecksilberchlorid und Thymol (No. 2 und 3) geht der Wasserstoffbindungsprozeß gar nicht vor sich.

Versuch II.

Es wurden zwei Flaschen von ungefähr 2,5 Lirer Inhalt genommen und beide mit je 500 ccm Schlamm aus einem Absitzbecken gefüllt; der Schlamm stand nach seiner Herausnahme aus dem Absitzbecken eine Woche lang in einem offenen Gefäße; dabei gärte er sehr stark und zeigte eine reichliche Ausscheidung von Gasen.

No. 1 Schlamm allein, No. 2 Schlamm mit 5 g kristallinischem Phenol.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Datum	Versuchsdauer Tage	B	t °C	No. 1 Schlamm			No. 2 Schlamm + Phenol		
				h	P	Wasserstoff gebunden	h	P	Wasserstoff gebunden
		mm		mm	mm	Proz.	mm	mm	Proz.
6. März	—	744	15,5	+ 4	692,5	—	+ 2	690,6	—
8. „	2	736	15,8	+ 14	693,2	—	+ 28	710,1	—
9. „	3	738	17,0	+ 4	681,4	1,6	+ 29	714,8	—
12. „	6	748	16,0	— 51	642,7	7,2	+ 23	712,3	—
20. „	14	746	16,0	— 106	589,0	14,9	+ 5	693,5	—
22. „	16	753	14,5	— 133	574,8	17,0	— 4	696,9	—
26. „	20	761	15,4	— 161	553,2	20,1	— 11	694,7	—
29. „	23	752	16,3	— 171	532,5	23,1	— 1	692,4	—
2. April	27	742	12,7	— 217	489,7	29,3	?	?	—
3. „	28	750	19,0	— 231	466,6	32,6	?	?	—
5. „	30	746	17,8	— 268	431,6	37,7	+ 12	693,4	—
9. „	34	754	11,4	— 394	334,9	51,6	— 15	698,2	—

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da das Gasvolumen in No. 1 2002 ccm war, so ist also durch 500 ccm Schlamm in 34 Tagen 1033 ccm oder 92,9 mg Wasserstoff gebunden worden, was durchschnittlich 30,5 ccm pro Tag ausmacht; in der Periode von 5. bis 9. April, in 4 Tagen also, sind 278,3 ccm Wasserstoff gebunden, was täglich 69,6 ccm präsentiert.

Am 9. April wurde durch die Flasche No. 1 nach deren Oeffnen wieder ein Wasserstoffstrom geleitet und darauf gefunden:

Datum	Versuchsdauer Tage	B	t °C	No. 1 Schlamm			No. 1 Schlamm + Phenol		
				h	P	Wasserstoff gebunden	h	P	Wasserstoff gebunden
		mm		mm	mm	Proz.	mm	mm	Proz.
10. April	—	754	18,0	+ 2	690,8	—	+ 4	692,6	—
12. „	2	746	15,0	— 4	688,5	—	—	—	—
16. „	6	743	12,0	— 10	690,3	—	—	—	—
27. „	17	753	14,5	— 1	699,8	—	—	—	—
18. Mai	38	742	13,5	— 86	612,1	11,4	— 1	692,9	—
21. „	41	756	15,5	— 110	596,2	13,7	—	—	—
25. „	45	750	20,0	— 168	522,0	24,4	+ 15	691,6	—
30. „	50	743	21,0	— 234	451,4	34,6	—	—	—

Wir sehen, daß dieselben 500 ccm Schlamm von neuem 34,6 Proz. des vorhandenen Wasserstoffes in 50 Tagen gebunden haben, was 693 ccm während der ganzen Versuchszeit oder 14 ccm täglich ausmacht.

Außerdem sehen wir noch, daß bei Anwesenheit von Phenol gar keine Wasserstoffbindung stattfindet.

Versuch III.

In zwei Flaschen, No. 1 von 2526 ccm und No. 2 von 2490 ccm Rauminhalt, wurden je 1 Liter Kanalisationsflüssigkeit gegossen; No. 1 wurde sogleich verschlossen und mit der darin befindlichen Luft stehen gelassen; durch No. 2 wurde vor der Verschließung 3 Stunden lang ein Wasserstoffstrom geleitet.

Es wurde gefunden:

Datum	Versuchsdauer Tage	B	t °C	No. 1 Abwasser mit Luft			No. 2 Abwasser mit Wasserstoff		
				h	P	Wasserstoff gebunden	h	P	Wasserstoff gebunden
		mm		mm	mm	Proz.	mm	mm	Proz.
12. Febr.	—	745	15,0	0	691,4	—	0	691,4	—
13. „	1	744	15,0	0	691,4	—	0	691,4	—
15. „	3	731	15,0	+ 5	682,8	1,2	+ 2,5	680,5	1,6
16. „	4	734	15,0	— 5	676,2	2,2	— 15	666,8	3,7
22. „	10	750	15,0	— 80	620,5	10,2	— 140	563,8	18,5
26. „	14	744	15,0	— 73	621,4	10,1	— 192	510,6	26,4
27. „	15	746	15,0	— 75	621,4	10,1	— 205	498,6	27,9
1. März	17	743	15,0	— 69	624,0	9,7	— 220	487,1	29,5
5. „	21	750	15,0	— 91	609,8	11,8	— 255	454,8	34,2
6. „	22	744	15,0	— 88	607,0	12,2	— 261	443,5	36,1
9. „	25	738	15,0	?	?	?	— 281	418,9	39,4
12. „	28	748	15,0	— 93	606,0	12,3	— 306	401,1	42,0
13. „	29	751	15,0	?	?	?	— 307	406,6	41,2
27. „	43	753	15,0	— 98	606,0	12,3	— 380	339,4	50,9

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ist aus diesem Versuch zu ersehen, daß im Kolben No. 1, welcher mit Luft gefüllt war, der absolute Druck infolge des Sauerstoffverbrauches für Atmung und andere Oxydationsprozesse, auch sinkt; nach 22 Tagen erreicht die Verminderung des Druckes eine Größe von 12 Proz., welche weiter nicht mehr wächst und ungefähr konstant bleibt. Dagegen wächst der Verbrauch des Wasserstoffes in Kolben No. 2 ununterbrochen 43 Tage und erreicht die Größe von 50,9 Proz. des anfänglichen Gasvolumens; da das letztere 1490 ccm war, so ist der absolute Verbrauch des Wasserstoffes für 1 Liter Kanalisationsflüssigkeit in 43 Tagen 758,4 ccm, was durchschnittlich 17,6 ccm pro Tag ausmacht; in dem Zeitraume vom 16. bis 22. Februar, in 6 Tagen also, verschwanden 220,5 ccm, das macht 36,7 ccm pro Tag aus.

Versuch IV.

Es wurde auch Koks aus einem Oxydationsfilter der biologischen Versuchsstation auf seine Fähigkeit, Wasserstoff zu binden, geprüft. In eine Flasche von ca. 2,5 Liter Inhalt wurden 500 g Koks gebracht und nach Durchleiten von Wasserstoff dieselbe bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Es wurde gefunden:

Datum	Versuchsdauer Tage	B mm	t °C	Koks mit Wasserstoff h mm	P mm	Wasserstoff gebunden Proz.
28. März	—	752	12,6	+ 9	715,0	—
2. April	5	742	16,5	— 12	671,8	6,0
5. „	8	746	19,6	— 28	649,5	9,2
9. „	12	754	12,5	— 122	592,3	17,2
10. „	13	754	18,0	— 133	564,7	21,0
12. „	15	746	15,4	— 178	523,0	26,8
16. „	19	743	12,7	— 230	478,3	33,1
27. „	30	753	14,5	— 291	425,2	40,5
3. Mai	36	740	14,5	— 321	384,5	46,2
18. „	51	742	13,5	— 411	303,1	57,6
21. „	54	756	15,5	— 434	290,6	59,3

Es sind also die Schlammteilchen, welche auf der Koksoberfläche sich befinden, ebenso fähig den Wasserstoffbindungsprozeß zu verursachen. Sie enthalten also einerseits die Mikroorganismen, welche diesen Prozeß hervorrufen und andererseits die Stoffe, welche für diesen Prozeß nötig sind.

Das anfängliche Gasvolumen war 2142 ccm. In 54 Tagen sind also 1270 ccm Wasserstoff gebunden; das macht 23,5 ccm pro Tag.

Versuch V.

Dieser Versuch wurde vorgenommen, um zu prüfen, welche Wirkung auf den Wasserstoffbindungsprozeß die Filtrierung des Abwassers hat; gleichzeitig wurde auch die Wirkung des Cellulosezusatzes geprüft.

4 Kolben von ca. 1300 ccm Inhalt erhielten:

No. 1 500 ccm Abwasser
„ 2 500 „ filtriertes Abwasser
„ 3 500 „ Abwasser und 52,3 g Filtrierpapier
„ 4 500 „ filtriertes Abwasser und 50,3 g Filtrierpapier

Die Resultate waren wie folgt:

(Siehe Tabelle p. 499.)

Man sieht, daß in der filtrierten Flüssigkeit (No. 2 und No. 4) die Bindung des Wasserstoffs viel schwächer verläuft als in der unfiltrierten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Datum	Versuchsdauer Tage	B mm	t °C	No. 1 Abwasser h mm	No. 1 Abwasser P mm	No. 1 Abwasser Wasserstoff gebunden Proz.	No. 2 Filtrat h mm	No. 2 Filtrat P mm	No. 2 Filtrat Wasserstoff gebunden Proz.	No. 3 Abwasser + Papier h mm	No. 3 Abwasser + Papier P mm	No. 3 Abwasser + Papier Wasserstoff gebunden Proz.	No. 4 Filtrat + Papier h mm	No. 4 Filtrat + Papier P mm	No. 4 Filtrat + Papier Wasserstoff gebunden Proz.
2. April	—	742	14,1	+ 0,5	692,2	—	+ 1	692,6	—	+ 2	693,6	—	+ 1	692,6	—
3. „	1	750	18,2	+ 8	691,9	—	+ 7	690,9	—	+ 6	690,0	0,5	+ 10	693,7	—
5. „	3	746	18,2	— 3	677,9	2,1	+ 23	702,2	—	+ 2	682,6	1,6	+ 23	702,2	—
[illegible] „	7	754	12,5	— 135	579,9	16,2	— 25	684,5	1,2	— 44	666,7	3,9	— 18	691,4	0,2
[illegible] „	8	754	18,0	— 154	545,0	21,3	— 5	684,2	1,2	?	?	?	— 15	674,9	2,5
[illegible] „	10	746	15,0	— 208	495,5	28,4	— 35	658,9	4,9	— 58	635,2	8,4	?	?	?
[illegible] „	14	743	12,0	— 272	439,8	36,5	— 64	638,7	7,8	—162	545,0	21,4	— 36	665,4	3,9
[illegible] „	25	753	14,5	Beendet			— 88	617,4	10,9	—306	411,0	40,7	+ 59	756,6	—
[illegible] Mai	46	742	13,5				—139	561,7	18,9				+122	809,8	—

(No. 1 und No. 3); der Zusatz der Cellulose, wie zu erwarten war, hat eine negative Wirkung auf die Verminderung des Druckes ausgeübt.

Alle diese Versuche zeigen uns, daß der Prozeß der anaëroben Bindung des Wasserstoffes durch Mikroorganismen tatsächlich existiert, und daß seine Geschwindigkeit genügend groß ist, damit dieser Prozeß in der Natur eine nicht unbedeutende Rolle spielen könnte; aus dem Versuch II sehen wir zum Beispiel, daß 500 ccm Schlamm pro Tag 30 ccm Wasserstoff im Durchschnitt und 70 ccm als Maximum zu binden im stande sind.

Es wird also dadurch möglich, daß unter anaëroben Bedingungen (z. B. bei Cellulosegärung) sich entwickelnder Wasserstoff sofort an Ort und Stelle wieder verbraucht wird.

Ueber die Erreger dieses Prozesses können wir zur Zeit noch nichts sagen; in dieser Richtung, ebenso um die chemische Natur und die physiologische Bedeutung dieses Prozesses aufzuklären, sind von uns weitere Untersuchungen angestellt.

Die schönen Untersuchungen von H. Kaserer haben sehr wahrscheinlich gemacht, daß dieser Prozeß eine anaërobe Oxydation des Wasserstoffes darstellt; man findet nämlich auf p. 771 seiner Arbeit [1]): „Für eine Oxydation des Wasserstoffes durch anaërobe Organismen kämen zunächst die exothermen Prozesse der Denitrifikation, der Sulfatreduktion und der Reduktion von Ferriverbindungen in Betracht.“ Dabei müssen wir bemerken, daß in allen unseren Versuchen, mit Ausnahme des Versuches IV, die Oxydation des Wasserstoffes mit Sauerstoff der Nitrate ganz ausgeschlossen war, da die Jauche keine Spur von Nitraten enthielt, wohl aber von Sulfaten.

Nachdruck verboten.

Ueber die Einwirkung der Bakterien auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens.

[Aus dem Hygien. Institut der Universität Helsingfors. Vorstand: Prof. Dr. Taav. Laitinen.]

Von **R. Stigell.**

Um einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bakterien auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens zu machen, führte ich zuerst folgende Versuche aus:

1) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XVI. 1906.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fünf Glascylinder von 4,6 cm Diameter und 50 cm Höhe wurden mit sterilem Quarzsand gefüllt und in jeden Cylinder wurde ein sicheres Thermometer 20 cm tief eingesteckt. Das Füllen der Cylinder sowie das Einstecken der Thermometer geschah so gleichförmig wie möglich. In jeden Cylinder wurden dann 50 ccm Wasser gegossen, in welches man zuvor 3 ccm Bouillonkultur von Bac. subtilis, Bac. coli communis, Bac. mesentericus fuscus und Proteus vulgaris und in den fünften gleichviel (3 ccm) sterile Bouillon zugefügt hatte. Die Cylinder wurden dann zu verschiedenen Malen von einer kälteren Stelle zu einer wärmeren und umgekehrt gebracht. Wie die äußere Temperatur an diesen Stellen und wie dieselbe in verschiedenen Cylindern nach verschiedenen Zeitabschnitten variierte, geht aus den folgenden Tabellen hervor:

Die Cylinder wurden von 17,4° nach 22,8° gebracht.

	Bac. subtilis	Bac. coli comm.	Bac. mes. fusc.	Proteus vulgaris	Kontroll-cylinder
Nach 5 Minuten	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
„ 10 „	18,2	18,0	18,0	18,1	18,05
„ 30 „	18,45	18,35	18,4	18,35	18,35
„ 60 „	21,45	21,4	21,4	21,4	21,55
„ 2 Stunden	21,6	21,6	21,6	21,6	21,6

Die Cylinder wurden von 22,8° nach 17,8° gebracht.

	Bac. subtilis	Bac. coli comm.	Bac. mes. fusc.	Proteus vulgaris	Kontroll-cylinder
Nach 10 Minuten	21,0	21,0	21,0	21,0	21,6
„ 30 „	20,4	20,4	20,8	20,6	20,6
„ 2 Stunden	19,4	19,4	19,5	19,4	19,5
„ 4 „	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0

Die Cylinder wurden von 17,8° nach 23,3° gebracht.

	Bac. subtilis	Bac. coli comm.	Bac. mes. fusc.	Proteus vulgaris	Kontroll-cylinder
Nach 10 Minuten	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
„ 1 Stunde	18,7	18,8	19,2	19,0	18,8
„ 2 Stunden	22,3	22,4	22,1	22,2	22,4
„ 4 „	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4

Da der Durchmesser der Cylinder so klein war, konnte die Wärmeleitung leichter von der Seite her, durch die 2 cm dicke Sandschicht, als von oben her durch die 20 cm dicke, hohe Schicht vor sich gehen, obwohl die Wand des Cylinders es teilweise verhindert hatte.

Da doch einige Verschiedenheiten zwischen verschiedenen Bakterien und besonders zwischen dem Kontrollcylinder bestanden, wurde eine andere Reihe von Versuchen ausgeführt.

Vier würfelförmige Pappkasten wurden mit Quarzsand gefüllt und in eine geräumige Metalllade gelegt, welche sorgfältig mit Baumwolle umgeben wurde, um die Kasten soviel als möglich zu isolieren, so daß die Wärmeleitung nur durch den Sand von der Oberfläche nach dem Boden geschehen konnte. In jeden Kasten wurde ein Thermometer bis auf den Boden gesteckt, also 20 cm tief. In jeden Kasten wurden dann so gleichmäßig wie möglich 100 ccm Wasser gegossen. Zu dieser Wassermenge hatte man zuvor zu den drei ersten 6 ccm Bouillonkultur von Proteus vulgaris, Bac. coli communis und Bac. subtilis und zu der vierten wieder die gleiche Menge steriler Bouillon zugefügt.

Wenn man diese Kasten wieder an Stellen von verschiedener Temperatur brachte, variierte die Temperatur in den verschiedenen Kasten in folgender Weise:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Kasten wurden von 20,7° nach 17,1° gebracht.

	Proteus vulgaris	Bac. coli comm.	Bac. subtilis	Kontrollcyl.
Nach 10 Minuten	19,8	19,8	19,8	19,8
„ 20 „	19,7	19,7	19,7	19,6
„ 30 „	19,3	19,5	19,4	19,25
„ 50 „	19,15	19,3	19,2	19,0
„ 1 Stunde	19,0	19,2	19,0	18,8
„ 2 Stunden	18,6	18,8	18,75	18,4
„ 3 „	18,5	18,7	18,6	18,2
„ 4 „	18,2	18,2	18,2	18,2

Als die Kasten über eine Nacht in einer Temperatur von 16,6° C gewesen waren, war die Temperatur in allen 16,6°.

Die Kasten wurden nun von 16,6° C nach 18,8° C gebracht.

	Proteus vulgaris	Bac. coli comm.	Bac. subtilis	Kontrollcyl.
Nach 10 Minuten	16,6	16,6	16,6	16,6
„ 30 „	17,0	16,8	16,7	17,0
„ 1 Stunde	17,3	17,15	17,1	17,4
„ 2 Stunden	17,5	17,3	17,2	17,6
„ 4 „	18,2	18,2	18,2	18,2

Die Kasten wurden von 18,8° C nach 15,5° und dann nach 2 Stunden wieder in eine Wärme von 18,8° C gebracht.

	Proteus vulgaris	Bac. coli comm.	Bac. subtilis	Kontrollcyl.
Nach 10 Minuten	18,6	18,6	18,6	18,6
„ 20 „	17,1	17,3	17,0	16,7
„ 30 „	16,8	16,95	16,8	16,3
„ 60 „	15,7	15,8	15,7	15,6
„ 2 Stunden	15,6	15,6	15,6	15,6
„ 3 „	16,4	16,0	16,3	16,7
„ 4 „	16,8	16,5	16,6	17,0
„ 5 „	17,1	16,8	17,0	17,4

Diese Versuche zeigen demnach, daß die Gegenwart der Bakterien, wenigstens in dieser Form, die Wärmeleitung verzögert.

Um mich zu überzeugen, daß die beobachteten Verschiedenheiten wirklich von der Gegenwart der Bakterien herrührten, vervollständigte ich meine Versuche auf folgende Weise:

Ich bereitete zwei Bouillonkulturen, eine von Bac. subtilis und eine von einer Symbiose, goß in jeden Kasten auf dieselbe Weise 100 ccm Wasser ein, in zwei Kasten mischte ich 5 ccm von Subtilis-Kultur und in zwei wieder 5 ccm von Symbiosekultur. In eine Subtilis- und Symbiosekultur goß ich einige Tropfen Sublimatlösung 1 : 1000 ein, so daß die Entwickelung der Bakterien wenigstens teilweise gehemmt wurde. Auch machte ich die Veränderung, daß in denjenigen Kasten, welcher früher als Kontrollkasten diente, jetzt das subtilis haltige Wasser eingegossen wurde und diejenigen Kasten, in welchen früher Proteus vulgaris und Bac. subtilis gewesen waren und in welchen der Unterschied zwischen den Kontrollkasten der bedeutendste war, wurden jetzt Kontrollkasten, und in den einen setzte ich die mit Sublimat behandelte Subtilis-Kultur, in den anderen wieder die mit Sublimat behandelten Symbiosekulturen.

Am ersten Tage konnte man kaum einen Unterschied beobachten, am folgenden Tage aber zeigten die Thermometer wieder bedeutende Verschiedenheiten. Wenn man die Kasten von 16,3° C nach 14,4° C gebracht hatte und nach 5 Stunden wieder nach 21,3° C, war das Resultat das folgende:

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Symbiose	Kontrollcyl.	Bac. subtilis	Kontrollcyl.
Nach 10 Minuten	16,3	16,3	16,3	16,3
„ 20 „	16,2	16,0	16,1	16,0
„ 40 „	15,7	15,3	15,8	15,5
„ 60 „	15,5	14,8	15,5	15,3
„ 2 Stunden	15,1	14,6	15,2	15,0
„ 4 „	18,5	19,4	18,6	18,8
„ 8 „	18,8	19,4	18,7	18,8

Alle diese Resultate haben also gezeigt, daß in denjenigen Cylindern und Kasten, welche Bakterien enthielten, die Wärmeleitung einigermaßen langsamer vor sich ging. Später konstatierte ich noch, daß die Wärme in allen Kasten ganz gleichförmig geleitet wurde, wenn man in alle eine kleinere Menge von sublaminhaltigem Wasser zugefügt hatte.

Aus diesen Beobachtungen schließe ich, daß die Bakterien wenigstens dann, wenn ihre Entwickelung am besten ist, die Wärmeleitung in dem Boden verzögern und dadurch — obgleich nur in minimaler Masse — darin den Temperaturwechsel, der durch die äußere Temperaturschwankung bedingt wird, vermindern.

Nachdruck verboten.

A contribution to our knowledge of the thread-bacteria. I.

1. Leptothrix ochracea (Kützing).
2. Gallionella ferruginea (Ehrenberg).
3. Spirophyllum ferrugineum (Ellis).

By **David Ellis,** D. Sc. Ph. D. F.R.S.E.

Lecturer in Botany and Bacteriology, Glasgow and West of Scotland Technical College, Glasgow.

With 2 plates.

Introduction.

The occurence of iron in large quantity in streams, is indicated by the red or reddish-brown coloration of the water. In the neighbourhood of Glasgow these coloured streams are very common because the underlying rocks are partly composed of iron-stone, and the latter being subject to denudation, iron is set free usually in the form of the soluble bicarbonate, $FeH_2(CO_3)_2$. This substance is soluble in water, but is also very rapidly oxidisable, so that although the water oozing direct out of the soil is colourless it soon becomes coloured being changed into the hydroxide according to the following equation:

$$\left.\begin{matrix} 2\,FeCO_3 \\ H_2CO_3 \end{matrix}\right\} + O + 3\,H_2O = \begin{matrix} Fe_2(OH)_6 + 2\,CO_2 \\ H_2O + CO_2 \end{matrix}$$

The hydroxide is insoluble in water and is quickly deposited, with the result that the bed of the stream is coloured a reddish brown. When the deposit is microscopically examined it is found to be entirely placed on the membranes of thread-bacteria, and in point of fact, in all the cases examined by me, no iron was found apart from the deposition on these membranes. The organisms described below were all found in the neighbourhood of Glasgow, and are all iron-bacteria in the sense that iron is found on their membranes. Their claims to be called iron-bacteria attaching to the name a physiological meaning will be discussed below.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

1. Leptothrix ochracea (Kützing).

Syn. Chlamydothrix ochracea (Migula).

This organism was first described in 1843 by Kützing. It was placed by him in the Alga-genus Leptothrix. His contribution is important only from the fact that he first observed the organism, as he placed this form in an algal order with the observation that it consisted of straight threads. In 1882 Zopf described the organism but considered it as a phase in the life history of Cladothrix dichotoma. It has since been examined by Migula and removed from the Algae, being rightly inserted in the thread-bacteria under the name Chlamydothrix ochracea. His description is short though accurate. As the whole account is confined to about a dozen lines in his „System der Bakterien" (8 [1]) it seemed to me necessary to enquire more closely into the life history of this form, more especially as it is the commonest of the iron-bacteria throughout Lanarkshire, Renfrewshire, Clackmananshire and Dumbartonshire and is doubtless very common throughtout Scotland. It often occurs as the sole organism present in the iron water, sometimes it is found along with Gallionella ferruginea, and more seldom in company with Spirophyllum ferrugineum. Even when found with others, it usually preponderates in numbers in the proportion roughly speaking of 20 to 1. The tanks in the basement of the Technical College of Glasgow contain this organism in abundance. I have also found it in other parts of Glasgow, so that there is no doubt that the whole town is permeated with it.

The general appearance is given in Fig. 1. It consists of a number of stiff straight filaments free at both ends, thus growing freely in the water. The filaments however, when not forming part of the bed of a stream, interweave so that the colony as a whole is attached to the bed of the stream, and waves gently to and fro as the water flows past the colony. In threads that have not recently divided, the ends are rounded off, but not so symmetrically as those of bacilli, in threads recently divided off, the ends in most cases are irregular in appearance. The most characteristic mark of this form is the membrane which is sharply outlined on the inside as well as the outside (Fig. 2). The breadth of the thread varies from $1^1/_2$—2 μ according to the age of the thread, but when covered with conidia, or when the deposit of iron is very thick, the breadth may reach to 3 μ or even more. Fig. 3 shows an individual covered with this thick deposit, which in this case has not been uniformly laid down. The length varies very much and may even reach 200 μ. Usually the threads are reddish-brown in colour, owing to the deposit of iron. By treatment with even a dilute solution of hydrochloric acid, the deposit is easily removed but if a stronger solution e. g. 30 % of the same acid be used, not only the deposit but also the organism itself disappears on the instant. Mixed with the live threads, a certain proportion of empty dead ones are found. These are devoid of the deposit of iron. They evidently crumble away and form a part of the deposit of the bed of the stream. When the iron is cleared away so gradually that the individual does not suffer, the protoplasm is seen to be of uniform consistency. I have not been able to observe any nuclei, neither are plastic or waste products observeable in the solid form. The wall is uniform in thickness, except when the organism is in process of cell-division. There are then apparent differences of thickness as in Fig. 4, but this is due to the deposit being cleared at these points.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Conidia-formation. The formation of conidia has been observed by Migula, who states also that their germination takes place on the threads. I have followed the formation in all its stages. The first stage is seen in Fig. 5. The thread is studded with a large number of round spots. These are the beginnings of the conidia. A later stage shows that the spots change themselves into protuberances Fig. 6. When a protuberance is large enough, constriction takes place, and the conidium is cut off. This formation of conidia is so prolific that the individual itself is invisible owing to the large number of conidia that have been formed and the thickness is often doubled. As mentioned by Migula, germination often takes place from the thread itself. This is shown in Fig. 6. This is evidently owing to the fact that constriction has been posponed, for though these young threads growing from the parent plant may attain some length they are ultimately cut off by constriction, after which they either enter a resting condition or else continue their growth.

The conidia are oval in shape, about 1 μ in breadth and 1,25 μ in length. Each has a single coat (Fig. 7a). When stained with methylene-blue, whereas the filaments are unaffected, the conidia are stained blue (Figs. 7b and 12). It seems at first remarkable that the process of conidia-formation takes place when often a fairly thick deposit of iron has to be overcome, but it has been suggested by Molisch (9) that the iron is caught by the mucilage outside the membrane, just as the colouring matters are caught by gelatine in various articles of confectionery, so that the density of the deposit would not be the same as that of a pure layer of iron salt. This explains the ease with which the conidia are able to break through the iron deposit. I have not observed the germination in this species, but there can be no doubt that the process is essentially the same as in Spirophyllum ferrugineum to be presently described. When newly formed, the conidia can be stained with dyes e. g. methylene-blue (Fig. 12), showing that at this stage, they have no iron deposit on them.

Cell-division. Hitherto the process of cell-division has not been observed for this organism. By gradually clearing away the deposit by means of very dilute hydrochloric-acid the cell-wall can be accurately observed. To observe this process, it is preferable to make use of individuals that are floating in the stream attached to the bed, rather than those that form part of the deposit on the bed, for the latter are usually past their period of active cell-division. The first sign of division is seen in the formation of nodules at different points on the thread (Fig. 8a). By careful observation it is seen that the nodule is in reality all that is seen of a thickened ring extending round the cell, as represented diagrammatically in Fig. 11, which shows two such thickened rings. This is what might have been expected, when it is remembered that the thread is cylindrical in shape. The rings are indicated by the two nodules on opposite sides of the membrane (Fig. 8a), which are all that are seen, unless one carefully focusses up and down, after a very careful removal of the iron deposit. It is noticeable that the nodules are not usually exactly opposite. As will be seen presently, this results in the ends of the daughter-cells being unsymmetrical. The next stage that can be observed is one in which each nodule divides into two (Fig. 8b). This means that the initial thickened ring round the cell, divides to form two thickened rings as represented diagrammatically in Fig. 10, 11 and the two cells draw apart. As the rings are usually oblique, it is common

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

to find daughter-cells with oblique ends. The whole process, as I conceive it, is represented, diagrammatically and with the thickened bands somewhat exaggerated in Figs. 11a, b, c. As the nodules are not seen in cells not undergoing division, a final stage subsequent to that represented in Fig. 11c, would be one in which the ends are free from nodules, and preparatory to separation as e. g. in Fig. 9. By very careful staining, a thin wall can be seen in some individuals stretching across the cell connecting two opposite nodules. The process is thus essentially the same as that which takes place in the Bacteriaceae, except for the formation of the thickened ring. I imagine that the biological reason for this provision during cell-division lies in the fact that being surrounded by an iron-deposit, the organism needs to strengthen itself at this point until the end wall has been formed, for, though the membrane is fairly thick, it is very delicate in constitution as is seen by treatment with hydrochloric acid.

2. Gallionella ferruginea (Ehrenberg).

Syn. Chlamydothrix ferruginea (Migula).

As mentioned above, this form is usually found in this neighbourhood in conjunction with Leptothrix ochracea, forming a very small proportion of the organisms present. Continental observers also state that in their investigations, it only appears combined with Leptothrix ochracea, so that it would appear that its existence depends on a symbiosis with this organism. In one place however, near Glasgow I have seen a pure culture of Gallionella ferruginea. In all my examinations I have not been able to obtain a second example of this.

Some light is thrown on the subject of its distribution by Adler (1) who has found it in various iron-waters in Austria, France and Germany. When present in iron-water, he states that it can be made the most prominent organism by leaving the water at the temperature of the room for three or four days. His observation disposes of Migulas assertion that it has not a wide distribution. I may add to Adlers observations the fact that I have found it in almost every sample of iron-water in the neighbourhood of Glasgow which I have examined.

As this organism was described by Ehrenberg as early as 1836 (4) it is inevitable that an organism of its peculiar nature should undergo many changes when its systematic position came to be adjudged by different observers. Ehrenberg himself put it among the Infusoria. It successively received the names Gleotila ferruginea (Kützing, 7[1]), Gloeosphaera ferruginea (Rabenhorst), Spirillum ferrugineum (Hausgirg, 5), Spirulina ferruginea (Kirchner, 6), Chlamydothrix ferruginea (Migula[2], 8), so that it has been wandering among the Infusoria, Algae and Bacteria. At present it is placed in the thread-bacteria and this may be regarded as its permanent position, for greater knowledge of these forms shows that this and the other iron-bacteria are, as will be shown below, undoubtedly connected phylogenetically.

The structure of Gallionella is extremely peculiar. It consists of a long cylindrical thread, bent first in the form of a hairpin, then spirally round itself as shown in Fig. 13. The ends are rounded off in the same way as those of bacillus-cells. The spiral winding produces a number of loops which may be few or many according to the age and condition of the individual. Thus as seen in Fig. 14 we may have 1/2 1, 1 1/2, loops in young individuals that have newly been out off: on the

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

other hand there may be 35 and more loops. Fig. 15 is part of an individual showing 35 loops. There is a great variety in the size, as can be seen by comparing Fig. 16 and Fig. 17.

The latter however is extremely exceptional, and whilst the average size is that proportionally represented in Fig. 13 viz. from a $^1/_2$ μ to $^3/_4$ μ in thickness of thread, the biggest which I have seen, had a thread which measured $1^1/_2$ μ in diameter. Migula (8[2]) in his investigation of this organism found two kinds of structure, viz. very delicate, irregularly wound threads of about 1 μ in thickness, and still more delicate threads forming chains, owing to the regularity of the spiral winding. I have not seen instances of his first kind, which in appearance somewhat resemble eels, but there is no doubt that these belonged to the same organism only that the conditions were not favourable for the occurrence of complete winding. His second kind however, is the same as those found in my cultures. There is great disparity in size between the smallest and the biggest of these organisms, but in view of the fact that I have discovered all the intermediate forms in one and the same culture I think it improbable that we are dealing with more than one species. This conclusion is the more probable when we remember the very great plasticity of organisms at this low stage of organisation. With regard to the loops, as might have been expected some are loosely wound, some are closely wound, whilst all the varieties between the two extremes may also be found. The various kinds are shown in Figs. 13, 16, 17, 18, 19. The ends may occasionally show absence of winding, but usually in my cultures these were quite the exception. I have not been able to distinguish by means of stains, any differentiation of structure, either of cell wall or of any plastic or waste products. Migula however asserts (8[2]) that he has been able to show the presence of an extremely fine membrane. Adler (1) who examined the Karlsbad iron-water, which contains this organism in abundance, was not able to confirm Migula's observation, and I may say that I, also, have been unable to distinguish this membrane and if present it must be extremely delicate.

Multiplication by cell-division. This has already been worked out by Migula (8[2]). I have confirmed all his observations. In Fig. 14 small portions of the spirals are shown which had been out off from the parent thread. As all stages of elongation and twisting are seen, from the stage represented in Fig. 14a to that of Fig. 15, it may be concluded that these small portions elongate and twist themselves till the mature form is reached.

Conidia-formation. Hitherto no investigater has been able to observe any method of multiplication other than by cell-division. It is true that in fresh cultures, this is the only method of multiplication, but by keeping the iron-water containing the organisms for some days, I have observed that conidia-formation also takes place, though not so universally as in Leptothrix ochracea and Spirophyllum ferrugineum. A typical case is seen in Fig. 20a which was observed in a sample taken from Cambusnethan near Glasgow, after being stored for 17 days. It is interesting to observe that the threads preparatory to the formation of conidia widen and loosen their loops evidently for the purpose of facilitating the production of a large number of conidia, for though their production is not universal, some of them produce so prolifically that the outline of the threads is either completely lost (Fig. 20b) or in some cases only their ends are seen peeping out from the mass of conidia. I have not traced the development of the conidia as it was

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

obvious that it agreed with the same in Leptothrix ochracea and Spirophyllum ferrugineum in all particulars. The conidia are also the same as in these organisms, both as regards size and shape. In no case however could I observe conidia growing out from the threads as takes place in Leptothrix ochracea. It is also more difficult to observe the stages of germination than in the others, but here again there is no reason to doubt that there is any difference in the process.

The deposit of iron in Gallionella ferruginea varies according to the age of the thread. In cases in which cell-division was proceeding actively the threads were either colourless or very slightly tinged with red, but in the deposit of the stream, and more especially in those in which many conidia had been found, the coating assumes a deep reddish tint owing to the large amount of ferric hydroxide deposited on the threads (Fig. 15). As in the other two organisms, here described, the conidia do not immediately leave the parent thread, and this allows the deposition of a relatively large amount of the hydroxide in the crevices between the conidia. In no instance could I observe any independent motility, even in the youngest threads in which no deposition of iron had taken place.

3. Spirophyllum ferrugineum (Ellis).

Whilst examining various samples of iron-water, I was fortunate enough to meet with a new form, and in the first place in which it was found viz, about half a mile out of Renfrew, it was the sole organism present in the rivulets forming the red deposits. I have however, since then, ascertained that it is present mixed up with other organisms in other places, some of them 50 miles apart, so that it is widely distributed in this part of Scotland. It probably extends over a much larger area, but I have not yet been able to determine whether it is present either further South or further North. I propose to call the genus Spirophyllum and this particular species Spirophyllum ferrugineum.

General structure. The body of the cell is flattened like a leaf, and spirally twisted on itself. In Fig. 21 an individual showing three turns is shown, but there is great variety in this respect, for while some have only half a turn, others may show 15 or more complete turns. By a complete turn is meant one in which as a result of the turn, the lower surface has become the upper surface. The name Spirophyllum is meant to indicate a spirally wound flattened structure.

With regard to the dimension it is necessary to state them, with regard to length, width, and thickness. In addition in this case, we must also state the length of a twist. The least width is naturally found immediately after germination from the conidia e. g. Fig. 22, 29, 40 etc. in which the width is 1 μ. The maximum width is seen in Fig. 23 which shows a portion of a spiral which had 14 turns, and in which the width was nearly 6 μ. Between these two dimensions all sizes were seen showing a perfect gradation, leaving us in no doubt as to the inclusion of all these forms under one species. This is the more apparent inasmuch as all gradations can be seen in one single drop of iron-water. With regard to the length of the individuals, the maximum length so far observed by me was 180—200 μ e. g. Fig. 23, of which only a portion is shown. In Fig. 24 we see an individual which had not long germinated, and which measured about 2 μ. There is no reason why threads longer than 200 μ should not exist and I have no doubt that more extensive

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

observations would result in their discovery. The thickness of the bands is not easy to determine accurately because though the threads are often seen with the margins facing the observer, as must be the case in a spirally twisted organism, the margins are thicker than the middle portions. The margins attain a thickness extending to approximately $^1/_3\,\mu$; the middle portion can be roughly extimated at $^1/_4$—$^2/_5\,\mu$. The closeness of the spiral finds its highest expression in Fig. 25 which, however, is extremely exceptional. In this case the length of a twist is very little greater than the width. The average is seen in Fig. 21 in which the twist-length is roughly four times the width. In exceptional cases as in Fig. 26, a twist-length may be nine to twelve times the width, but nineteen out of twenty of the organisms have twist-lengths three or four times greater than the width.

A noticeable feature of the twist is that it may be towards the right or towards the left, and it may exhibit both kinds even in the same individual. With regard to the internal differentiation, there is no indication of a definite cell-wall such as is found for instance in Leptothrix ochracea. In place of it we find that the organism is thicker at the edges than at the middle and there does not seem to be a sharp line of demarcation separating the two parts, though, owing to its greater thickness, the thickened edge is easily distinguishable when stained with dyes e. g. methylene blue. By examination of stained specimens and by carefully examining the edges at the parts where they are turned up, it is seen that a transverse section would appear somewhat like Fig. 27. This is different from anything known among bacteria, and is found only in the genus Spiromonas which was found by Warming (10) on the coast of Denmark and which is described as having a similarly thickened edge. Now as Spiromonas Cohnii — which is the only known representative of the genus — is also a flat leaf-like organism and curls in the same way, it would appear that this development has become necessary to subserve the purposes of twisting without danger of tearing. In the case of Spirophyllum ferrugineum there is the additional necessity of strength imposed upon it, because each individual has to bear the weight of a large quantity of ferric hydroxide. In one case the edges of an organism had become torn away from the middle portion. It was then seen that the above account of the structure of the individual as regards the margin, was correct. The extremities of the individuals are very different from anything yet known in this division of the vegetable kingdom. Where the organism has made only half a turn, the extremities appear much narrower than the remaining portions, but this is due to the fact that at this point the organism is somewhat turned up, Fig. 28. Where the end is flattened out as in Figs. 21, 25, 26 it is seen that the ends are as wide as the rest of the organism. The remarkable feature about them, however, is the fact that they are not neatly rounded off as we see for example in the bacillus cell, but are unsymmetrical and angular. Examples are shown in Figs. 21, 25, 26. When individuals are examined in which no deposition of iron has taken place, the appearance of the cells is somewhat transparent and grey-coloured. Not the slightest evidence was obtained to show that it was other than homogeneous. In many cases, however (Figs. 21, 25) small dots marking the beginnings of conidia-formation, give the appearance of cell-contents. These are, in reality, as will be explained below, small protuberances from the surface of the organism.

The spiral twisting of the individuals. The most charac-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

teristic feature of this organism is that the individuals at a very early stage begin to twist. This phenomenon must be regarded as a spontaneous vital movement, similar for example, to the amoeboid movement of the zoospores of the Myxomycetes. It does not appear to be influenced by any external factors; it is universally found except in the very young stages i. e. stages immediately subsequent to germination. Examples of stages in which twisting has not begun are shown in Figs. 24, 40. In Fig. 22 is shown the youngest condition in which the twisting is observable. Slightly older stages are shown in Figs. 29, 30a, 43. At this period the individual has no deposit of iron on its surface, and in consequence is grey and transparent. Also, although the edge is thickened, it is not as yet very pronounced, so that there is no hindrance to the twisting. That the period of twisting can be prolonged beyond this condition is seen in Fig. 30b in which the twisting is only just commencing. This condition, however, is far less common than the one just mentioned and it may be taken that twisting begins almost immediately after germination and before deposition of iron has taken place. When once begun the twisting goes on till the whole length has been traversed. It does not always take place in the same direction, for there may be 2 or 3 twists to the right followed by one or two to the left. Thus in Fig. 26 there is one right and one left twist. In this paper I regard a right twist as one of the same kind as in a coil of wire round a stick, in which the wire on the upper part of the stick goes to the right e. g. Fig. 31 is a coil to the right und Fig. 32 one to the left. The right and left turns are evenly distributed among the individuals of this species. Again two individuals turning round each other are as common as those that are free. When once they have caught on, twisting takes place till the whole course has been traversed. Examples are given in Figs. 33, 34. Usually the twining pairs are approximately of the same length but sometimes this is not the case. At first I thought it somewhat remarkable that more than two individuals do not interlock, as the organisms in the deposit on the bed of the stream are always massed very closely together, and it would appear that one individual would touch several others. It seems to me however, that when they are thickly massed together in the deposit, the period of irritability is past, and it is doubtful whether the organisms apart from the conidia are still alive. Again, the twisting must be accomplished before a thick deposit is laid down, otherwise a very large inertia, probably greater than the capacity of the plant, has to be overcome.

Vegetative division. During my observations on this form I was not able to observe any cases of vegetative division, with the single exception represented in Fig. 35 in which division by a transverse slit across the cell had apparently taken place. However, in examining some of my slides a couple of months after their preparation, I met several cases in which two individuals had evidently originally belonged to the same parent. I must leave this open at present, for while it is almost certain that some form of vegetative division does take place, I am not certain that I have observed it.

Conidia-formation. The formation of conidia in this species, as in Leptothrix ochracea is very prolific. The first appearance of the conidia is indicated by large dark dots marking the surface of the flat organisms (Figs. 21, 25). These are obviously produced by very slight protrusions and can be seen in the youngest stages, when no traces of iron deposition are observable on the organism and before twisting has

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

begun (Fig. 36). They are found on individuals on which a very slight deposit is observable, on individuals in which twisting is well advanced, and, judging from their immense numbers, they must be produced even after a thick deposit of iron has already been laid down (Fig. 37). The conidia can make their way through the iron deposit without any difficulty. As conidia formation takes place throughout the whole life of the organism, and as most of them adhere to it, the individuals are sometimes so loaded with conidia that their original outline is completely lost, and an appearance similar to Fig. 37 is seen. Thus hundreds, even thousands of conidia may be attached to one individual. The deposit on the bed of the stream into which the iron-water runs, consists chiefly of organisms in this condition, and the cause of the sinking of the organisms to the bottom of the water is evidently due to the increase of weight caused by the further deposition of iron in the interstices of the conidia. This increases the specific gravity of the organism till it is greater than that of water. By examining an individual in which the deposit of iron is very small, and on which the number of conidia is comparatively few, all stages in conidia-formation can be readily observed. When the protuberance has attained the normal size, a constriction is formed at its base, and the newly formed conidium, as it can now be called, is physiologically independent of the parent plant. The process is repeated again and again, and in many cases every square μ of the individual is employed in this process. The thickness of the thread is often doubled, sometimes nearly trebled by this conidia-formation.

The structure of conidia. The conidium is oval in shape (Fig. 38), measuring about 1 μ in width and 1,75 μ in length. There is very little variation from this size, and the conidia are thus exactly the same in size as those of Leptothrix ochracea and Gallionella ferruginea. By careful staining with methylene blue or fuchsin the presence of the external membrane of the conidium is easily observable. The contents appear when stained to be of a homogeneous consistency. They are too small to admit of more detailed observations.

Germination of the conidia. In order to observe this process, samples were taken from water as near the point of exit from the earth as possible. In this condition, as was to be expected, we meet with what must be very young cultures of Spirophyllum ferrugineum, inasmuch as the water oozing out from the earth is devoid of these organisms, but soon afterwards takes them up. In Fig. 39 is represented what I take to be the youngest condition. The membrane is still attached, and the young vegetative cell has just been extruded from the conidium. It will be noticed that the flattened condition is assumed immediately after extension. In Fig. 24 is shown another instance of a very young vegetative condition, in this case freed from the conidium membrane. When stained with methylene blue no appearance of a limiting membrane to the young cell could be observed, nor any differentiation of cell-contents. It forms before staining a grey, semitransparent, angular, flattened undifferentiated portion of protoplasm.

The young vegetative cell. In the same cultures as these examined for germination, numerous examples of young vegetative cell can be seen. Fig. 40 shows a condition that is very typical. It is about 1,5 μ in width and in this instance about 10 μ in length. It is flat, grey, semi-transparent, and like older specimens is unsymmetrical and somewhat angular. The ends are usually irregular and somewhat oblique. As yet no spiral twisting is observable, neither has the margin begun

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

to assume its rampart thickening. I invariably found this organism motile at this stage. The motility consists of a wriggly movement, accompanied by a slow pendulum movement, as if one end had one or more cilia attached. I have not been able to demonstrate the cilia and am inclined to think that the movement is of an amoeboid nature. In Fig. 41 is seen a condition in which twisting has just begun and in Fig. 42 the organism represented has accomplished a complete turn. In this condition it is grey and transparent, has no perceptible deposit of iron, and no thickened margin. In Fig. 43 a further advance has been made in that two complete turns have been accomplished. The motion is a combination of forward, trembling, and pendulum movements. Still later stages are shown in Figs. 28, 36. In the individuals represented by Figs. 40—43 there was no deposit, but in those shown in Figs. 28, 30 a slight deposit had begun to be formed, the individuals now being of a pale brownish-red colour. Movement is now stopped, and during the rest of the life of the organism, is not again assumed because the deposition of iron, the formation of conidia, and the thickening of the edges, are inimical to movement. From this point on, growth in length and width take place and conidia-formation is started. All stages and all sizes are observed, the variation of length, width, and twist-lengths producing a large variety of forms.

The artificial culture of Spirophyllum ferrugineum. I have made numerous experiments with the object of artificially cultivating this form, and have tried most of the methods, tried by others in their efforts to obtain pure cultures of other iron-bacteria. Winogradsky (11) gives one method which was not at all successful either with Spirophyllum or Leptothrix or Gallionella. The methods found to be successful by others resulted, in my cultures, in a preponderance of an undesired bacillus or coccus and a consequent extinction of the desired organism. This must often be the case in bacteriological experiments, for the preponderance of any one form depends on the sum total of conditions being favourable to it, and the sum total is never the same in any two localities. It is not necessary to state all the experiments which were unsuccessful, it will be sufficient to describe the only one out of many which was successful in cultivating Spirophyllum ferrugineum. A small portion was inoculated into a solution made up of sterilised well-water to which freshly precipitated ferric hydroxide had been added, and which was contained in a sterilised flask. The culture was allowed to remain on a table exposed to sunlight. I think the exposure to sunlight was the determining factor in deciding which form should be preponderant, for, being protected by the iron compound, the light would probably be more harmful to the other organisms. In two or three weeks, a flocculent red deposit was obtained, in which I found that nearly all the ferric hydroxide, which I had added, had attached itself to the organisms, which accounted for the very flocculent nature of the deposit, as ferric hydroxide placed in water under the same conditions, settles down at the bottom of the flask in the same way that fine sand would. The appearance of the organisms differed in no way from that found in nature, consisting of the usual spirally twisted bands, coloured deep brown and thickly covered in most cases with conidia.

The deposition of iron on the membranes. The outstanding feature of the iron-bacteria is that in nature, so far as yet known, they are only found in streams abounding in iron in the form of ferric

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hydroxide, and also that they have the power of collecting this iron until the whole of it is located on their membranes. The following are the facts: —

1. Iron oozes out of the earth in the form of the soluble bicarbonate.

2. Later, this iron is found on the membranes of these bacteria in the form of the hydroxide.

The first to observe these facts was Cohn (3), who in examining the deposit on Crenothrix polyspora, compared the deposition of iron to that of silicon in diatoms and calcium carbonate in certain cell membranes of the Melobesiaceae. In 1878 the same organism was examined by Zopf (12). He came to the conclusion that the deposition was purely mechanical, the iron being caught in the mucilaginous layer surrounding the cell in the same way that gelatine catches up colouring matters in the preparation of certain jellies. In 1888, however, a totally different explanation was given by Winogradsky (11) who connected the deposit of iron with the metabolism of the cell. According to him the soluble bicarbonate in the water was absorbed into the cell, and as a result of metabolic activity, changed into ferric hydroxide $Fe_2(OH)_6$. This can be represented as follows: —

$$\left.\begin{matrix} 2\,FeCO_3 \\ H_2CO_3 \end{matrix}\right\} + O + 3\,H_2O = Fe_2(OH)_6 + \begin{matrix} 2\,CO_2 \\ H_2O + CO_2 \end{matrix}$$

He saw in it a process of respiration, hence he concluded that the plant obtained its energy by the oxidation of the soluble bicarbonate into the hydroxide, in a way analogous to the oxidation of sulphur into the sulphate by the sulphur-bacteria, and to the oxidation of nitrites to the nitrates by the nitrate-bacteria. His reasons for this conclusion were based on the following facts.

1. Deposition of iron occurs only in water containing iron in the ferrous condition.

2. For the growth of these bacteria, ferrous carbonate is absolutely necessary.

3. Only living threads possess an iron deposit.

Of these three facts, the first two were never proved by him. His publication was meant as a preliminary notice, but although nineteen years have since elapsed, no further contributions on this subject have appeared from his pen. With regard to the third fact, there is no doubt that only living threads possess iron on their membranes, but as will presently be seen, this admits of another explanation. In 1892 an important paper on this subject was published by Molisch (9). He showed that the iron-bacteria could be cultivated without the addition of a particle of iron. This shows that the second fact mentioned above is not correct. Further he showed that the fact that only living threads possess iron on their membranes is explained by the fact that only the living threads possess a mucilaginous layer outside their true membranes. This layer catches the iron as the water filters through to the inside, and being mucilaginous, retains it. As dead threads are devoid of this mucilaginous layer, it follows that iron cannot be expected on their surfaces.

I have tried to demonstrate the presence of iron inside the cell in the case of Leptothrix ochracea. The deposit can easily be cleared by washing the cells with dilute hydrochloric acid. This can be done so gradually that the membranes and cell-contents are unaffected by the reagent. When now potassium ferrocyanide is added, and time given for

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

it to penetrate no blue coloration can be detected, which would be the case if any iron were present in the cell. If iron took part in the metabolism, it would certainly be found inside the cell. Again in Winogradsky's prescription for the cultivation of iron-bacteria, he gives ferric hydroxide as one of the constituents. This is remarkable in view of his statement that for the growth of these forms ferrous carbonate is absolutely necessary, in other words, he employs the end product of metabolic activity as a food constituent. Finally, there is, it seems to me, another argument against this supposition viz. the ease with which ferrous carbonate changes into ferric hydroxide, as a result of the oxidation of the atmosphere. This is so much the case, that the soluble bicarbonate of iron cannot be kept more than a few minutes in solution, because when exposed to the air it immediately oxidises into the hydroxide. Is it then probable that the iron-bacteria would enter into competition against such fearful odds? In iron-springs, the water oozing from the earth is colorless, being in the soluble bicarbonate condition. As there are no bacteria just at this point, it seems remarkable, on the supposition that bacteria cause this change, that the iron deposit is found so very near the point of exit of the water. It seems to me that Molisch's explanation covers the facts of the case. He states that the mucilaginous layer acts like a filter, keeping back the iron-compound, which is later oxidised on the membrane without entering into the cell. As to the reason why the organism attracts the iron, he points out that the researches of Klebs have shown that Zygnema has the power of attracting aluminium, iron and chromium compounds, which are retained in the mucilaginous layer which surrounds the cells, and in consequence of which considerable swelling takes place. This power of attraction for organic or inorganic bodies is quite common throughout the whole vegetable kingdom, and more especially among bacteria, thus they are attracted by the salts of potassium, and they may be lured to their destruction by such substances as corrosive sublimate. These are thus, different aspects of the phenomenon of Chemotaxis. In the case of the attraction under question, we seem to have a case of chemotaxis with this difference from ordinary cases, that the iron-bacteria are the attracting and not the attracted agents. We cannot call them iron-bacteria, any more than we can call Zygnema an iron-alga. It has recently been shown by Beythien, Hempel and Kraft (2) that in the cultivation of this form, iron can be replaced by manganese, in fact their attraction for manganese is greater than for iron. Molisch has pointed out, that nowhere in nature is iron necessary to a plant and being at the same time replaceable by manganese. The results which Adler (1) has arrived at, are remarkable in view of what has been stated above. He states that the addition of substances which hinder the growth of these organisms prolongs the precipitation of ferric hydroxide. Hence if the precipitation is hastened by the presence of these bacteria, it would appear that there was a biological as well as a purely chemical factor, concerned in the process. This is difficult to explain in view of the fact that the presence of iron can be dispensed with in the cultivation of these forms, and that no particle of iron enters the cell. One would be inclined to think that the presence of these forms would have the effect of prolonging the precipitation because in the process of respiration the oxygen in the water is being used up, which would hinder the chemical oxidation. It is possible that they assimilate, in which case, as

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oxygen would be given off, the process of precipitation would be materially expedited. I certainly think that, if Adler's results be found to be universally true, some such mechanical explanation will be found explain this action of the organism on the oxidation of the soluble bicarbonate. In my own observations I have found them in places fully to exposed to the sun, engaged in active cell-division, so that it is just possible that assimilation may be taking place. I hope to solve this problem when I have obtained a satisfactory method of cultivating Spirophyllum ferrugineum artificially.

The phylogenetic relations of the Iron-bacteria. The iron-bacteria form a strange mixture of organisms. There are now six known forms, which are united together by the fact that they all store iron on their membranes, but it is significant that to all, different generic as well as specific names have been given. They are the following: Crenothrix polyspora, Cladothrix dichotoma, Clonothrix fusca, Leptothrix ochracea, Gallionella ferruginea, and Spirophyllum ferrugineum. Before this investigation Leptothrix ochracea was known only to possess the power of multiplication by conidia, and Gallionella by cell-division. Now that I have shown that each of the two, possesses in addition the mode of multiplication of the other, and that the same conidia-formation and probably also the same method of cell-division is found in Spirophyllum ferrugineum, it seems to me obvious that these three form a closely allied group in spite of the differences in their external appearance. With regard to the method of asexual reproduction, they stand in sharp contrast to the other three forms mentioned above, inasmuch as in the latter the reproductive bodies are formed on an entirely different plan. In Crenothrix polyspora they are "cocci" produced inside the sheath which are afterwards thrown out, in Cladothrix dichotoma, the "roving gonidia" as they are called, are the same as the cocci, except that no division of the cell into small parts takes place. They are liberated with the aid of cilia. Clonothrix fusca discovered in 1904 by Schorler, has the general appearance of Cladothrix dichotoma, in that false branching is common, but otherwise there is total agreement with Crenothrix polyspora as to the appearance of the individual threads and as to the method of reproduction. These three in the same way constitute a natural group. We cannot yet make dogmatic statements as to the affinities of the iron-bacteria, because they have been so little studied, but so far as known, they may be divided as follows:

- Iron-bacteria
  - reproduction by external abstriction of conidia
    - Leptothrix ochracea
    - Gallionella ferruginea
    - Spirophyllum ferrugineum
  - reproduction by separation of internally produced cells
    - Crenothrix polyspora
    - Cladothrix dichotoma
    - Clonothrix fusca

This must be regarded only as a provisional division, though I think the division is on "natural" lines, when based on the method of formation of the asexual bodies.

Next with regard to the phylogenetic position of the iron-bacteria as a whole. There is no doubt as to their insertion in the thread-bacteria or Chlamydobacteriaceae. Migula in his "System der Bakterien" defines this group as follows: "Zellen cylindrisch, zu Faden angeordnet,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die von einer Scheide umgeben sind, Vermehrung erfolgt durch bewegliche oder unbewegliche Konidien, welche direkt aus den vegetativen Zellen hervorgehen und ohne eine Ruhepause durchzumachen, zu neuen Faden auswachsen."

All the iron-bacteria can be included under this order, although Spirophyllum ferrugineum has no external membrane and is not cylindrical. However, Chlamydothrix hyalina included in this order is stated by Migula to be devoid of an external membrane, and another, viz: Phragmidiothrix, also included in this order is not cylindrical in shape, so that in view of the obvious relationship of Spirophyllum ferrugineum to Leptothrix ochracea and Gallionella ferruginea, any group which includes the latter must also accept the former. It seems to me that Migula's definition of the order Chlamydobacteriaceae should be made more general and read: "Cylindrical or flat cells, usually invested by an external membrane" instead of „cylindrical cells in the form of threads, which are invested by an external membrane". If this were done, the iron-bacteria could be included as a sub-order of this order. So far as yet ascertained the iron-bacteria all belong to the same family, and that being the case, the possession of the power to attract iron can be used as a diagnostic in the division of the Chlamydobacteriaceae, because it indicates the possession of other characteristics. This makes the division a "natural" one though it deviates from the usual method of choosing characteristics, in that the basis of division is physiological instead of morphological. This difficulty is not valid, however, because in bacteriological analysis every investigator knows the very small number of characteristics that are really constant under all circumstances, and so long as the basis of division is a "natural" one it does not seem to me to matter whether it be morphological or physiological. Anything more than a tentative division is not yet advisable inasmuch as further investigation may show that there are iron-bacteria not belonging to the thread-bacteria, in which case the adoption of the power of attracting iron as a basis of division falls through. An interesting feature in connection with the discovery of Spirophyllum ferrugineum is the fact that it serves as a bridge to connect the iron-bacteria Leptothrix, Gallionella, Cladothrix, Crenothrix and Clonothrix on the one hand with Spiromonas on the other hand. It was so different from the others that Migula thrust it out of the Bacteria group altogether, describing it in his "System der Bakterien" as a dependent, the systematic position of which was a doubtful matter. Spirophyllum agrees with Spiromonas in possessing a flattened body thickened at the edge in the same way. The latter is also spirally twisted, though never showing more than one and a quarter turns, and is motile in the mature condition. Spirophyllum on the other hand may exhibit any number of turns, and is only slightly motile immediately subsequent to germination. Hence Spirophyllum can be placed midway between the other iron-bacteria and Spiromonas, and this justifies not only the inclusion of Spirophyllum, but also of Spiromonas into the thread-bacteria.

Summary and conclusion.

Summary of characteristics of Leptothrix ochracea. Preponderates in the waters round Glasgow. Usually in association with Gallionella ferruginea, over which it preponderates to the extent of about 20 to 1. Organism consists of a number of straight filaments

33*

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

free at both ends. Ends often unsymmetrical. Membrane very sharply contoured, internally as well as externally. Breadth varies from $1^1/_2$ to 2 μ, but when covered with ferric hydroxide often teaches 3 μ and more. Length reaches up to 200 μ and possibly more.

Formation of conidia takes place by means of a process of budding, constriction taking place as soon as the requisite length has been obtained. Sometimes the constriction is prolonged so that a number of quill-like structures are seen protruding from the organism. Eventually these also are abstricted and elongate to form new threads. The conidia are oval in shape and measure about 1 μ in breadth and about $1^1/_4$ μ in length. Each has a single membrane.

Multiplication also takes place by cell-division. At various unequal distances along both sides of the membranes, small nodules are formed. Each nodule divides into two the split taking place between the two daughter-nodules. As the pairs of nodules are not exactly opposite the pairs on the other side of the membrane the daughter-cells are not symmetrical at the ends.

The cell- and conidium-contents are perfectly homogenious. In no stage of its life-history is any motility observable.

Summary of characteristics of Gallionella ferruginea. Usually in conjunction with Leptothrix ochracea, very seldom found alone. Structure is like that of a hairpin, spirally wound round itself. The spiral winding produces a number of loops, the number of which may be few or many. The thickness of the threads varies usually from $^1/_2$ to $^3/_4$ μ exceptionally reaches to $1^1/_2$ μ. The winding may be loose or tight. The structure of the cell is perfectly homogeneous. Migula states that an extremely delicate membrane is present, but I have not been able to confirm this observation. Multiplication takes place freely by the cutting off of small portions, which then elongate to form a new individual. Conidia-formation is also quite common, though not so universal as in Leptothrix ochracea. The process of formation of conidia is identical with the same in this organism, as is also the size and shape of conidia. The deposit of iron is the same as in other iron-bacteria. In no stage of its life-history was any motility observable.

Summary of characteristics of Spirophyllum ferrugineum. Body of cell elongated, flattened and spirally twisted. The number of spiral turns may vary from a quarter turn to fifteen turns and more. The width varies from 1 to 6 μ. The length may reach to 200 μ and possibly more. The middle portion of the cell has a thickness of $^1/_4$ μ, but the edge is thickened up to $^1/_2$ μ. There is no definite membrane, but the edge is thickened so as to form a kind of rampart all round the cell. The ends are usually irregular, angular and unsymmetrical. The spirals may be very close or very wide apart, but the majority of the individuals have spiral lengths three or four times greater than the width. The organism has, so far, been found only in iron-water, and except in the youngest stages is coated with a thick deposit of ferric hydroxide.

Multiplication is effected by the budding off of conidia, the process being exactly the same as in Leptothrix ochracea and Gallionella ferruginea. Each conidium has a single coat, is oval in structure, measuring about 1 μ in width and 1,75 μ in length. Each germinates by bursting open the spore membrane, the contents then being protruded, after which the young vegetative cell is freed from the spore membrane: the young cell exhibits for a short time a faint movement, partly of a trembling and partly of a pendulum nature. Conidia-formation begins

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

when very young even before the twisting has begun, and may persist throughout the whole life of the individual, even when thickly encrusted with ferric hydroxide.

Hitherto only one doubtful case of multiplication by vegetative division has been observed. Immediately after germination the vegetative cell becomes flattened, and soon begins to twist spirally. Two individuals often twist round each other, and the twists may be right or left, or even *both* right and left in the same individual.

With regard to the interpretation of the layer of iron, on the membrane of these bacteria, I think it may be safely assumed, that we are dealing with one of those peculiar aspects of the properties of vegetable protoplasm viz. a power of attraction for certain non-living substances; this is very common among bacteria, and must be regarded as a form of Chemotaxis. The reasons given above repudiate the idea that the attraction of iron has any biological significance in so far as this is connected with the metabolism of the cell.

The importance of the finding of the new genus which I have named Spirophyllum, and the new facts brought to light in connection with the methods of multiplication of the two species Leptothrix ochracea and Gallionella ferruginea, lies in this, that these three organisms form a group phylogenetically connected together, and slightly removed from the other iron-bacteria viz: Cladothrix, Crenothrix, and Clonothrix, which likewise form a natural group. Again the discovery of Spirophyllum ferrugineum connects Spiromonas Cohnii which has hitherto been relegated to an isolated position outside the bacteria, with the thread-bacteria so that this form must be regarded as one of the thread-bacteria. The division of the iron-bacteria is made provisional because though all the forms hitherto investigated belong to the thread-bacteria, it is possible that further research will reveal forms that belong to other bacterial orders. Should this be found to be the case, we cannot employ the power of attracting iron as a diagnostic in classification, because as this would imply the possession of other properties, the classification would not be along natural lines.

Literature.

1) **Adler**, O., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1904.
2) **Beythien, Hempel und Kraft**, Zur f. Nahrungsmitteluntere. etc. 1904.
3) **Cohn**, Beiträge z. Biologie d. Pflanzen. Heft 3.
4) **Ehrenberg**, Poggendorffs Annalen. Reihe II. Bd. VIII. 1836.
5) **Hausgirg**, Algenflora von Böhmen. Bd. II. 1893.
6) **Kirchner**, Kryptogamenflora von Schlesien. 1878.
7) **Kützing**, 1) Phycologia generalis. 1843. — 2) Species Algarum. 1849.
8) **Migula**, 1) System der Bakterien. Jena 1892. — 2) Ueber Gallionella ferruginea. (Berichte d. deutsch. bot. Ges. Bd. XV. 1897.)
9) **Molisch**, H., Die Pflanzen in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.
10) **Warming**, E., Observations sur quelques bactéries qui se rencontrent sur les côtes du Danemark. 1875.
11) **Winogradsky**, Botanische Zeitung. 1888.
12) **Zopf**, 1) Entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen über Crenothrix polyspora, die Ursache der Berliner Wasserkalamität. Berlin 1879. — 2) Zur Morphologie der Spaltpflanzen. Leipzig 1882.

Explanation of Plate.

Fig. 1.	Leptothrix ochracea.	Coated with ferric hydroxide.
Fig. 2.	„ „	To show sharply outlined membranes.
Fig. 3.	„ „	Increase of size due to thick deposit of ferric hydroxide on the membranes.
Fig. 4.	„ „	Showing unequal thickness of wall. Se text.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 5. Leptothrix ochracea. Thread partially cleared of the deposit. Shows the beginning of conidia-formation.
Fig. 6. „ „ Later stage in formation of conidia.
Fig. 7. „ „ Conidia. (a) unstained, (b) stained with methylene-blue.
Fig. 8. „ „ (a) Thread showing first stage of cell-division. (b) Thread showing second stage of cell-division.
Fig. 9. „ „ Thread showing last stage of cell-division in which the daughter-threads are completely separated.
Figs. 10—11. „ „ Diagrammatic representation of cell-division.
Fig. 12. „ „ Thread with newly formed conidia, on its surface. Stained with methylene-blue.
Fig. 13. Gallionella ferruginea. Typical thread.
Fig. 14. „ „ Showing method of multiplication by cell-division.
Figs. 15—19. „ „ Showing various relative sizes.
Fig. 20. „ „ (a) Showing conidia formation. (b) Showing thread, the outline of which has been completely lost by the mass of conidia formed upon it.
Fig. 21. Spirophyllum ferrugineum. Typical mature cell.
Fig. 22. „ „ Young cell.
Fig. 23. „ „ Showing gigantic individual.
Fig. 24. „ „ First stage after germination.
Fig. 25. „ „ A closely wound individual.
Fig. 26. „ „ A loosely wound individual.
Fig. 27. „ „ Diagrammatic transverse section.
Fig. 28. „ „ Lower end somewhat turned up giving appearance of having narrow ends.
Figs. 29—30. „ „ Young individuals.
Fig. 31. Illustration of right hand twist.
Fig. 32. Illustration of left hand twist.
Figs. 33—34. Spirophyllum ferrugineum. Examples of twining individuals.
Fig. 35. „ „ Doubtful cases of cell-division.
Fig. 36. „ „ Showing the beginning of conidia-formation.
Fig. 37. „ „ Cell covered with conidia.
Fig. 38. „ „ Conidium.
Fig. 39. „ „ Showing germination.
Figs. 40—43. „ „ Young cells.

Nachdruck verboten.

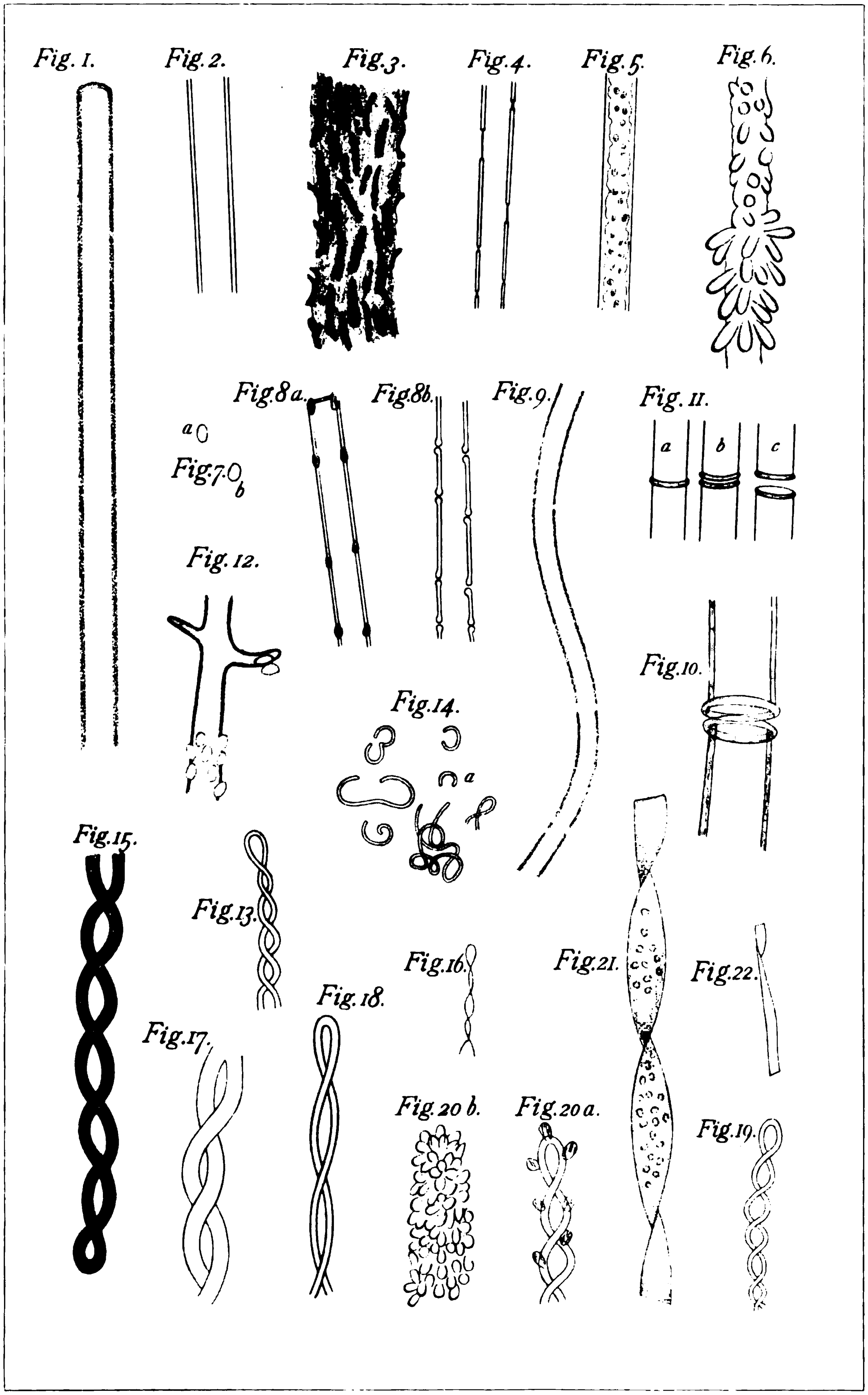
Durch einen Micrococcus hervorgerufene Gelbbraunfärbung von Hartkäse.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. Dr. H. Weigmann.]

Von **Harald Huss.**

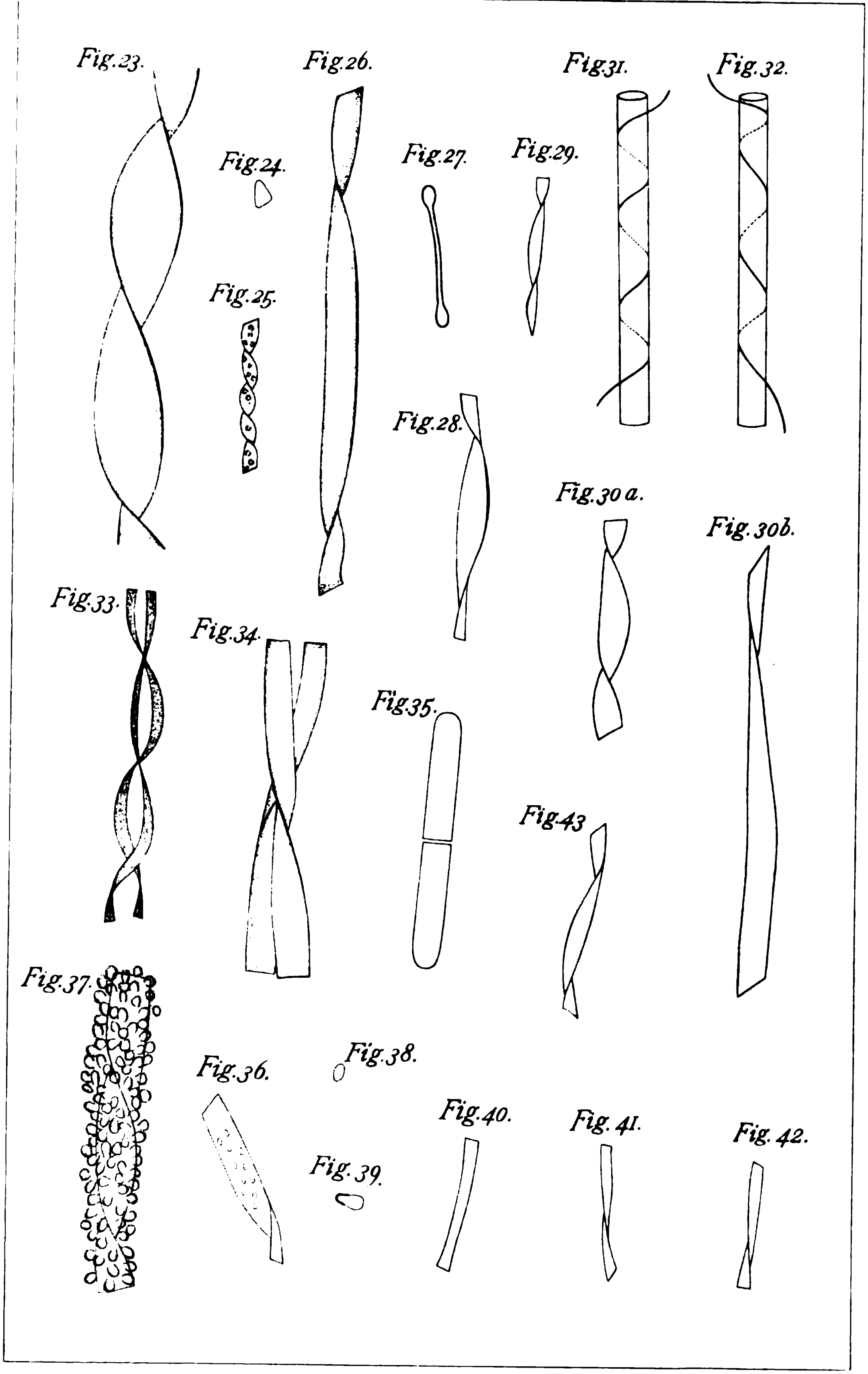
Die hin und wieder sowohl bei Hart- wie bei Weichkäsen auftretenden Fehler, welche sich in einer anormalen Färbung verschiedener Partieen der Käsemasse äußern, sind in den allerhäufigsten Fällen mykologischen Ursprungs. Je nachdem die diese fehlerhaften Erscheinungen verursachenden Pilze sich in oder außerhalb der reifenden Käse vorfinden, ist die Lokalisation der abnorm gefärbten Stellen eine andere. Wird der Käsebruch schon vor dem Formen mit pigmentbildenden Pilzen infiziert, tritt der Fehler als kleinere oder größere Flecken mitten im Käse auf. Wenn dagegen der Infektionsherd sich außerhalb des Käses befindet, kommt eine zuerst auf die Rindenpartieen beschränkte Fehlfärbung zustande, welcher dann später bei längerem Lagern auch die mehr zentral gelegenen Partieen des Käses anheimfallen können. In diesem Fall, wobei die farbstoffproduzierenden Pilze wohl meistens in den Käseborden bezw. in den Käseformen zu suchen sind, diffundiert das von den Mikroorganismen erzeugte Pigment durch die Rinde hindurch allmählich in die Käsemasse hinein. Ein Teil der Pilze, von denen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Ellis del. Verlag von Gustav Fischer, Jena. P. Weise, Lith., Jena.

Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY



Ellis del. Verlag von Gustav Fischer, Jena. P. Weise, Lith., Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

die Oberfläche des Käses befallen ist, dringt selbstverständlich auch in das Innere des Käseleibes ein und beschleunigt somit den Färbungsprozeß.

Aus der einschlägigen Literatur ersieht man, daß die Beobachtungen auf dem hier in Frage stehenden Gebiete recht viele waren. In dem hier zu beschreibenden Falle handelt es sich um eine auf die Peripherie des Objektes beschränkte, rötlichbraune oder gelbbraune, dicht unter der Rinde fast mahagonibraune Färbung eines aus der Provinz Sachsen stammenden Hartkäses als deren Ursache ein Micrococcus erkannt wurde.

Im „Milchwirtschaftl. Centralblatt“ beschreiben Weigmann, Gruber und Huss[1]) einen ähnlichen Fall von fehlerhafter Färbung von Käsen, wobei eine unbewegliche, Sporen nicht bildende, stabförmige Bakterie, Bacterium casei fusci, isoliert wurde. Gruber[2]) hat später die betreffende Bakterie genauer charakterisiert. Er schreibt bezüglich des Ursprungs und der Wirkung des Bact. casei fusci folgendes: „Der Ursprung dieses farbstoffbildenden Bakteriums ist auf einen Käsefehler zurückzuführen, der in einer norddeutschen Käserei auftrat und Weichkäse in der Nähe der Rinde gelbrot bis rosarot färbte. Bei Hartkäse war die Tinktion so stark, daß derselbe durch und durch mahagonibraun war, am stärksten in den Partieen unter der Rinde . . . .“ Für die Isolierung der diese Färbung veranlassenden Bakterie bediente sich Gruber der Käsegelatine, einem Substrate, in dem der betreffende Mikroorganismus gut gedieh. Gewöhnliche Fleischgelatine und Agar erwiesen sich als Isolierungsmedien untauglich, was um so mehr auffallen muß, da die Bakterie später bei der kulturellen Untersuchung auf diesen Nährböden zur Entwickelung kam. Diese eigentümliche Erscheinung glaubt Gruber darauf zurückführen zu können, daß die verschiedenen Arten der in den fraglichen Käsen anwesenden Mikroorganismen bei ihrem Wachstum anf den beiden gewöhnlichen Nährmedien Gelatine und Agar wohl Stoffwechselprodukte ausgeschieden haben müssen, die einer Entwickelung des Bacterium casei fusci hemmend entgegentraten. Das Bacterium casei fusci wurde nicht nur in den bezüglichen Käsen, sondern auch, und zwar beinahe in Reinkultur, in den Fragmenten der in der Käserei benutzten Holzborden angetroffen.

Außer dieser Bakterie Grubers wären hier noch die von Adametz[3]) isolierten „roten Käsemikrokokken“ und der Micrococcus desidens (Flügge) Migula als fehlerhafte Käsefärbungen hervorrufende Mikroben zu erwähnen.

Der eine als „roter Käsemicrococcus No. 1“ bezeichnete Spaltpilz wurde von Adametz wiederholt auf der Rinde von Emmentalerkäse angetroffen. Er verursacht hier nach der Beschreibung von Adametz kleine runde, rote Flecken, welche sich nur sehr wenig in die Tiefe der Masse hinein erstrecken. Die Wirkungsweise des „roten Käsemicrococcus No. 2“ ist dieselbe wie die der No. 1. Sowohl auf Peptongelatine wie auf Agar bilden beide Mikroorganismen fleischrote schleimige Belege. In physiologischer Hinsicht unterscheiden sie sich voneinander dadurch, daß No. 1 tiefergreifende Umsetzungen der

---

1) Weigmann, Gruber und Huss, Einige bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1906.)

2) Gruber, Th., Ueber die Ursache der braunroten Färbung von Hart- und Weichkäsen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907.)

3) Adametz, L., Ueber die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse. Bremen 1893.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eiweißkörper der Milch herbeizuführen vermag, während der Micrococcus No. 2 nicht imstande ist, solche Veränderungen zu verursachen.

Micrococcus desidens oder, wie Flügge ihn zuerst nannte, Micrococcus flavus desidens, hat Barthel[1]) als den Urheber der gelben Flecken erkannt, die er bei Port-du Salut-Käsen wahrnehmen konnte. In der Gelatinestichkultur entwickelt sich der Micrococcus desidens (Migula, W., System der Bakterien. 1900) folgendermaßen; „In der Tiefe des Stichkanals entsteht eine konfluierende porzellanweiße[2]) Masse; auf der Oberfläche ein gelbbrauner schleimiger Belag, der aber nicht bis zu den Glaswandungen reicht. Nach 8 Tagen ist die Gelatine unterhalb des Belags so weit erweicht, daß ein mit dicker Flüssigkeit erfüllter Cylinder von 3—4 mm Höhe vom Durchmesser des oberflächlichen Belages entstanden ist, auf dessen Boden dann letzterer allmählich herabsinkt."

In dem Folgenden gebe ich jetzt eine Beschreibung der morphologischen und kulturellen Eigenschaften des Micrococcus, welcher von mir aus einem Käse isoliert wurde, dessen Rindenpartie, wie schon oben erwähnt, stark gelbbraun tingiert war. Der Käse, welcher aus einer sächsischen Käserei stammte, wurde uns von der Agrikultur-chem. Versuchsstation in Halle a. S. zwecks Untersuchung über die Ursache der fehlerhaften Farbe zur Verfügung gestellt. Außerdem erhielten wir gleichzeitig 2 Proben Holzfragmente, von denen die eine von den „rot"-gefärbten Borden abgeschabt war, auf welchen die Käse gelagert hatten; die zweite Holzprobe bestand dagegen aus Spänen von nicht gefärbten Borden desselben Käsekellers.

In allen diesen Objekten, dem Käse und den Holzfragmenten, wurde die Bakterie, die durch später zu beschreibende Kontrollversuche als Erreger der gelbbraunen Färbung des Käses identifiziert wurde, gefunden. Sowohl die Rindenstücke des Käses wie die Holzfragmente von den gefärbten Borden enthielten dieselbe in großer Menge; in den Holzspänen der nicht tingierten Käsebänke war sie auch, aber nur in geringer Zahl, vorhanden.

Zur Isolierung des Micrococcus wurden Fleischgelatine- und Agarplatten von den Aufschwemmungen der resp. Proben in sterilem Wasser gegossen. Auf den Platten kam außer anderen Kolonieen eine kleinere oder größere Anzahl gelber Kolonieen zur Entwickelung, die alle dasselbe makroskopische Aussehen hatten. Die mikroskopische und kulturelle Untersuchung einiger dieser Kolonieen zeigte, daß sie alle Descendenten ein und derselben Micrococcus-Art waren.

Da die Bakterie, welche mit keinem der bis jetzt beschriebenen, pigmentbildenden Mikrokokken identisch ist (vergl. auch hierzu die oben angeführten Bakterien), in Reinkultur auf den verschiedensten Substraten einen lebhaft chromgelben Farbstoff erzeugt, nenne ich sie Micrococcus chromoflavus.

Zwecks Feststellung, daß der Micrococcus chromoflavus auch wirklich die anormale Färbung des Käses verursacht hatte, kamen folgende Versuche zur Ausführung. Auf dem Boden von großen sterilen Petri-Schalen liegendes Filtrierpapier wurde mit einer 24 Stunden alten Bouillonkultur befeuchtet. Als Versuchsobjekt diente junger und alter Tilsiterkäse, von welchem größere Stücke in die Schalen gelegt wurden. Schon nach einer Woche waren alle Käsestückchen an der dem Papier zugekehrten Seite kräftig gelbbraun tingiert, welche Färbung nach längerer

1) Barthel, Chr., Bakteriologie des Meiereiwesens. Leipzig 1901.
2) Im Original nicht gesperrt.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit immer mehr zunahm und immer tiefer in die Käsemasse hinein diffundierte. Die Tinktion des Tilsiterkäses stimmte mit der gelbbraunen Farbe der eingesandten Käsestücke überein.

Morphologie des Micrococcus chromoflavus.

0,9—1,05 μ im Diameter messende Mikrokokken, die keine Bewegung zeigen. Irgendwelche für den Mikroorganismus charakteristische Anordnung der Zellen wurde nicht beobachtet.

Färbbarkeit.

1) Karbolfuchsin: Färbt sich leicht und gut.
2) Nach Gram: Die Färbung fällt positiv aus.

Sauerstoffbedürfnis.

Weder bei Zimmertemperatur noch bei 37° C findet bei anaërober Züchtung in N-Atmosphäre Wachstum statt. Der Micrococcus gehört also zu den obligaten Aërobionten.

Ansprüche an Temperatur und Zusammensetzung des Nährmediums.

Die Bakterie gedeiht bedeutend besser bei 35—37° C als bei 20°, insofern, daß die Vermehrung bei der höheren Temperatur eine ausgiebigere ist als bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Bei denjenigen Kulturen aber, die bei hoher Wärme wachsen, wird nur eine geringfügige Menge Pigment gebildet; sie wachsen oft fast farblos.

Bezüglich der Zusammensetzung und Reaktion der Nährböden liebt der Micrococcus chromoflavus alkalisch oder neutral reagierende Substrate. Auf sauren Nährböden ist das Wachstum der Bakterie ein bedeutend schwächeres als auf Substraten, die eine alkalische Reaktion haben.

Gelatineplatten. Temperatur 20° C.

a) Natürliche Größe.

1) Oberflächenkolonieen: Nach 2 Tagen höchstens 0,3 mm im Diameter fassende, fast matte gelbliche, tröpfchenähnliche Belege, um welche herum die Gelatine ganz leicht eingesunken ist. Am 4. Tage finden wir die Kolonieen, welche jetzt etwa $^2/_3$ mm groß geworden sind, in einer ganz seichten kreisrunden Verflüssigungsschale liegen. Die Form der Kolonieen ist kreisrund, der Rand derselben glatt. Ihre Farbe erscheint auf schwarzer Unterlage hellockergelb. 7 Tage alte Kulturen zeigen die Kolonieen als kreisrunde, glattrandige, ockergelbe, etwa 1 mm im Diameter messende Scheiben, die in der Mitte von uhrglasförmigen 3—5 mm großen Verflüssigungsschalen liegen. Die außerhalb der Kolonieen befindliche flüssige Gelatine ist wasserklar. Erst am 9. Tage wird eine Lockerung in den peripheren Partieen der Bakterienmasse sichtbar. Die gelbe Scheibe erscheint zu dieser Zeit von einem gelblichgrauen Kreis umgeben. Im übrigen ist die die Verflüssigungsschalen ausfüllende Gelatine klar.

2) Tiefenkolonieen: Am 2. Tage graue, am 4. Tage gelbliche Pünktchen oder Scheibchen. In 7—10 Tage alten Kulturen haben die meisten Tiefenkolonieen die Oberfläche des Substrates erreicht und gehen dann allmählich in die Form der Oberflächenkolonieen über.

b) Bei 130-facher Vergrößerung.

1) Oberflächenkolonieen: 2 Tage alte Kolonieen sind kreisrund, glattrandig, grünlichgelb und grobkörnig. Am 4. Tage erscheinen die Beläge mehr bräunlichgelb und in einem Alter von 7 Tagen haben dieselben eine rotbraune Farbe. Im übrigen sind die Kolonieen zu

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieser Zeit kreisrund: die innere Zeichnung ist körnig und der Rand der Bakterienmasse ist nicht so dicht, wie in den jüngeren Stadien; die Bakterien trennen sich in der flüssigen Gelatine voneinander, wodurch die Randpartie zerfetzt erscheint.

2) Tiefenkolonieen: Zweitägige Tiefenkolonieen haben eine kreisrunde oder rundliche Form: sie sind glattrandig und besitzen dieselbe Farbe wie die Oberflächenkolonieen. Die innere Zeichnung der Bakterienmasse ist körnig. Nach 4 Tagen sind die runden Scheiben mehr oder weniger bräunlich und konzentrisch gezeichnet. Mit zunehmendem Alter werden die Kolonieen immer dunkler, so daß sie schon am 7. Tage fast schwarz, undurchsichtig erscheinen. In den späteren Stadien der Entwickelung, wo die Tiefenkolonieen sich immer mehr der Substratoberfläche nähern, bekommen dieselben einen zerrissenen Rand.

Agarplatten. Temperatur 20° C.

a) Natürliche Größe.

1) Oberflächenkolonieen: Nach 2 Tagen $^1/_3$ mm im Durchmesser fassende, kreisrunde, beim durchfallenden Lichte graue, auf schwarzer Unterlage weißlichgraue, auf weißer Unterlage gelbgraue, fast flache Beläge, die nach dem Zentrum zu etwas erhaben sind. In 4 Tage alten Plattenkulturen haben die Kolonieen einen Diameter von etwa 0,6—0,7 mm. Die Farbe derselben erscheint jetzt auf schwarzer Unterlage graugelb, auf weißer Unterlage chromgelb und gegen den Himmel gehalten schwarz oder braun. Die Beläge sind kreisrund, wenig gegen das Zentrum hin erhaben. Die optische Oberflächenbeschaffenheit der Bakterienmasse erscheint fettglänzend. Am 7. Tage haben die Kolonieen ihre Maximalgröße erreicht; sie messen zu dieser Zeit etwa 1 mm im Diamter. Ihre kreisrunde Form behalten sie immer, haben aber jetzt eine fast saftigglänzende Oberfläche bekommen. Die chromgelbe Farbe der Beläge geht wie bei den Strichkulturen des Micrococcus chromoflavus, nach längerer Zeit in eine fast zitronengelbe oder grau kadmiumgelbe über.

2) Tiefenkolonieen: Graue Pünktchen oder kreisrunde Scheibchen, die später eine mehr gelbliche Färbung annehmen.

b) Bei 130-facher Vergrößerung.

1) Oberflächenkolonieen: Kreisrunde, graugelbe, am Rande fein gezähnte Kolonieen, deren periphere Partieen fast farblos sind. Im Laufe der Entwickelung erhalten die Beläge eine bräunliche, am Rande mehr gelbliche Farbe; sie sind feinkörnig und fast undurchsichtig.

2) Tiefenkolonieen: Bräunlich gefärbte, wetzsteinförmige, ovale oder runde, körnige Kolonieen, die später dunkelrotbraune Farbe annehmen.

Gelatinestich. Temperatur 20° C.

Die Entwickelung der Stichkultur verläuft folgendermaßen:

Nach 24 Stunden: Ein kleiner, hellockergelber Oberflächenbelag entstanden.

Nach 48 Stunden: Der Belag leicht in die Gelatine eingesunken; im Kanal recht kräftiges Wachstum der hellgraugelben Kultur.

Nach 4 Tagen: Eine untiefe, uhrglasförmige Verflüssigungsschale, die etwa 3—4 mm im Diameter faßt, gebildet.

Nach 5 Tagen: Die Verflüssigungsschale 0,5 cm tief eingesunken, auf diesem Stadium trichterförmig. Der Trichter ist mit von feinkörniger, gelbbrauner Bakterienmasse getrübter, flüssiger Gelatine gefüllt.

Nach 8 Tagen: Die Oeffnung des Verflüssigungstrichters etwa

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8 mm im Durchmessar, Am Boden des Trichters haben sich reichliche Mengen hellgelber, körniger Bakterienmasse angesammelt. Die verflüssigte Gelatine ist zu dieser Zeit fast klar, nur wenig durch Körnchen getrübt. Auf der Flüssigkeit schwimmt graugelbe Bakterienmasse. Im fadenförmigen Stichkanal ist die Entwickelung kräftig.

Nach 3 Wochen: Der schön schmale Verflüssigungstrichter streckt sich jetzt fast bis zum Boden des Kulturglases. Derselbe endigt *unten* ganz spitz. Die Oberfläche der flüssigen Gelatine ist von lebhaft chromgelber Bakterienmasse bedeckt; die Flüssigkeit schwach getrübt. Am Boden des Trichters hat sich nur wenig Bakterienmasse angesammelt.

Nach 1 Monat: In den späteren Stadien schreitet die Verflüssigung des Substrates äußerst langsam vorwärts. Es bildet sich oft an der Oberfläche der flüssigen Gelatine eine dichte, wie gesagt, schön chromgelbe *Haut*, die der festen, hier oben eingetrockneten Gelatine fest anhaftet. Vielleicht wird hierdurch die Zufuhr von Sauerstoff bedeutend herabgesetzt, wodurch die Entwickelung der Kultur und gleichzeitig die Produktion von proteolytischen Enzymen stark vermindert wird. In denjenigen Kulturen, wo die Haut nicht einheitlich ist, beobachtet man auch eine beträchtlich schnellere Peptonisierung des Nährbodens. Die Form der Verflüssigungszone blieb aber immer und ist auch zu dieser Zeit trichterförmig. Die Verflüssigung hat auf diesem Stadium im obersten Teil die Glaswand erreicht, die flüssige Gelatine ist nur wenig trübe und die Menge des gelblichen Bodensatzes gering.

Gelatinestrich. Temperatur 20° C.

Erst nach 3 Tagen ist eine deutlich sichtbare, untiefe Verflüssigungsrinne entstanden, die mit prächtig chromgelber Bakterienmasse ausgekleidet ist.

3-proz. NaCl-Gelatinestich. Temperatur 20° C.

Das Wachstum verläuft hier wie in den Gelatinestichkulturen, nur schreitet die Verflüssigung etwas rascher vor als in den oben behandelten, nur 0,5 Proz. enthaltenden Substraten.

Molkengelatinestich. Temperatur 20° C.

Entsprechend der Abneigung des Micrococcus chromoflavus sauren Substraten gegenüber, entwickeln sich Kulturen, die in Molkengelatine gezüchtet werden, sehr langsam. In 1 Monat alten Stichkulturen, deren oberste Schicht stark eingetrocknet ist, nimmt man auch eine nur geringfügige Verflüssigung des Nährbodens wahr. Die tiefe, durch das Eintrocknen entstandene Einsenkung in der Molkengelatine ist zum Teil mit schwach gelblich grauer Bakterienkultur ausgekleidet, die infolge der Verflüssigung des Substrates feuchtglänzend ist. Im Stichkanal ist keine sichtbare Vermehrung der Bakterien eingetreten, von einer Verflüssigung ist auch nichts zu merken.

Gelatine mit Ferrum tartaricum oxydatum versetzt.
Stichkultur. Temperatur 20° C.

Die Kultur entwickelt sich wie eine gewöhnliche Gelatinestichkultur. In 1 Monat alten Kulturen konnte kein schwarzer Bodensatz beobachtet werden. Die Bakterie erzeugt also keinen Schwefelwasserstoff.

Agarstrich.

1) Temperatur 20° C.

Nach 24 Stunden: Schmaler saftig glänzender, glattrandiger,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf schwarzer Unterlage gelblich grauer, gegen weißes Papier gehalten hel lockergelber Belag.

Nach 3 Tagen: Fast chromgelber, 1,5 mm breiter Belag von etwas schleimiger Konsistenz.

Nach 4 Tagen: Lebhaft chromgelber Strich.

Nach 7 Tagen: Etwa 2 mm breiter, flacher, glattrandiger, saftig glänzender, prächtig chromgelber Belag.

Nach 1 Monat: Der äußere Habitus der Strichkultur ist zu dieser Zeit derselbe wie in 7-tägigen Röhren, nur ist die Farbe des Beleges, wie schon bei der Beschreibung der Agarplattenkulturen erwähnt wurde, eine mehr grau kadmiumgelbe.

2) Temperatur 37° C.

Nach 24 Stunden: Fettglänzender, auf schwarzer Unterlage weißlich-grauer Belag, dessen Breite bedeutend größer ist als die der vorhergehenden Strichkultur zu derselben Zeit.

Nach 3 Tagen: Etwa 3 mm breiter, glattrandiger, saftig glänzender, hellockergelber Belag.

Nach 4 Tagen: Die Farbe der Kultur ist jetzt mehr graugelb.

Nach 8 Tagen: Saftig glänzender, gelblich grauer Belag.

Nach 3 Wochen: Saftig glänzender, glattrandiger Belag, der eine graue Farbe besitzt; nur am Rande ist derselbe gelblich.

Wie bei so vielen anderen Bakterien, wirken auch hier die höheren Temperaturen auf die Fähigkeit des Micrococcus chromoflavus, Pigment zu produzieren, hemmend ein. Der Brutwärme ausgesetzte Kulturen, auch solche, die mehrere Wochen bei höherer Temperatur gestanden haben, werden aber, bei Zimmerwärme gehalten, bald wieder gelb.

Agarstich. Temperatur 20° C.

Der Oberflächenbelag entwickelt sich hier wie die Kultur auf schräger Agarfläche. Im Stichkanal findet nur im obersten Teil Vermehrung statt; das Wachstum ist hier ohne Charakter.

1-proz. Milchzucker-Agarstich. Temperatur 20° C.

Anfangs ist der Oberflächenbelag hier etwas heller als in der zuckerfreien Agarstichkultur, in den späteren Stadien ist aber kein makroskopischer Unterschied zu verzeichnen.

Käseagarstrich. Temperatur 20° C.

Das Substrat für diese Kulturen, der Käseagar, wurde in folgender Weise zubereitet: 20 g des zur Untersuchung eingesandten Käses wurden mit destilliertem Wasser verrieben, das Gemisch filtriert und auf 1000 ccm aufgefüllt. Zu diesem Filtrat wurden 10 g Pepton, 5 g Chlornatrium und 20 g Agar gesetzt; nach dem Erhitzen wurde Kalilauge bis zur schwach alkalischen Reaktion (Lackmuspapier) zugefügt.

Die Kultur des Micrococcus chromoflavus auf diesem Nährboden unterscheidet sich nur insofern von der auf gewöhnlichem Agar, daß die lebhaft chromgelbe Farbe derselben auf Käseagar viel länger erhalten bleibt als auf käsefreiem Substrat. Vergleicht man z. B. zwei Agarkulturen der Bakterie, von denen die eine 10 Tage alt, die andere 1 Monat alt ist, mit einer Käsekultur, welche 1 Monat alt ist, so beobachtet man (besonders deutlich, wenn die Kulturen auf weißem Papier ausgebreitet werden), daß die Käseagarkultur dieselbe lebhafte Farbe hat wie die 10 Tage alte Agarkultur.

Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Molkenagarstrich.

1) Temperatur 20° C:

Nach 2 Tagen: Sehr schwach entwickelter, schmaler, gelblich-grauer Belag.

Nach 8 Tagen: Die Farbe des Striches ist jetzt bedeutend gelber geworden.

Nach 3 Wochen: Lebhaft chromgelber, saftig glänzender, schmaler, glattrandiger, flacher Belagstreifen. Das Kondenswasser ist fast klar; der Bodensatz beinahe chromgelb.

2) Temperatur 37° C.

Nach 2 Tagen: Etwa 1 mm breiter, glänzender, ganz schwach gelblich-grauer Belag.

Nach 3 Wochen: Saftig glänzender, fast grauer Belag, welcher im übrigen der Kultur 1) gleich ist.

Molke.

1) Temperatur 20° C.

Nach 24 Stunden erscheint die Kultur schwach trübe mit einem geringfügigen Bodensatz. In 4-tägigen Kulturen beobachtet man keine Trübung der Flüssigkeit; der kleine Bodensatz ist fadenziehend und von graugelber Farbe. Nach 3 Wochen hat der immer noch fadenziehende Bodensatz fast chromgelbe Farbe angenommen.

2) Temperatur 37° C.

Die Kultur entwickelt sich wie 1), mit dem Unterschied, daß der Bodensatz, welcher auch hier fadenziehender Konsistenz ist, weißlich-graue Farbe hat.

Bouillon.

1) Temperatur 20° C.

Nach 24 Stunden: Schwach getrübt; geringer sandiger Bodensatz.

Nach 4 Tagen: Recht kräftig trübe; reichlicher, gelblicher, fadenziehender Bodensatz.

Nach 3 Wochen: Schwach trübe; der Bodensatz ist bedeutend gelber geworden, besitzt aber nicht chromgelbe Farbe. Hautbildung wurde niemals beobachtet.

2) Temperatur 37° C.

Nach 24 Stunden: Recht kräftig getrübt; geringer sandiger Bodensatz.

Nach 4 Tagen: Gleicht einer 4-tägigen, bei 20° gewachsenen Kultur; die Trübung ist aber hier beträchtlich kräftiger.

Nach 3 Wochen: Klar; Bodensatz reichlich, fadenziehend, grau.

Milch.

Weder bei 20° C, noch bei höheren Temperaturen ruft der Micrococcus chromoflavus makroskopisch wahrnehmbare Veränderungen in Magermilch hervor. Es bilden sich sowohl in den bei Zimmertemperatur wie in den bei 37° C gezüchteten Kulturen gefärbte Bodensätze; bei den ersteren ist der Bodensatz schön chromgelb, in den letzteren gelblich-grau. Die Beobachtungen wurden an 1 Monat alten Kulturen gemacht.

Vollmilch- und Rahmkulturen unterscheiden sich nur insofern von Magermilchkulturen, daß bei jenen die Fettschicht gelbe Färbung annimmt. Recht auffallend ist, daß in diesem Fall die Färbung bei den Brutschrankkulturen immer kräftiger auftritt als in den bei Zimmerwärme gezüchteten Kulturen.

Wird Magermilch gleichzeitig mit einer Milchsäurebakterie und dem Micrococcus chromoflavus geimpft, so tritt weder bei 20° noch bei 37° Pigmentbildung ein.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kartoffel.

1) Temperatur 20° C.

Die Entwickelung auf Kartoffeln ist eine äußerst langsame. Eine 1 Monat alte Kultur besteht aus einem schmalen, feuchtglänzenden, schön chrom- oder fast mehr kadmiumgelben Belagstreifen. Die Konsistenz der Bakterienmasse ist vaselinartig weich.

2) Temperatur 37° C.

Bei dieser Temperatur entwickelt sich innerhalb 1 Monats ein kaum sichtbarer, äußerst schmaler, gelblichgrauer Belag.

Stoffwechselprodukte.

Micrococcus chromoflavus bildet kein Indol und, wie aus dem Vorhergehenden erhellt, keinen Schwefelwasserstoff. Dagegen wird Kaliumnitrat in reichlichen Mengen zu Nitrit abgebaut.

Die Hauptcharaktere des Micrococcus chromoflavus sind also:

1) Micrococcus von 0,9—1,05 μ Diameter.
2) Obligater Aërobiont.
3) Produktion eines chromgelben Farbstoffes.
4) Bildung proteolytischer Enzyme.

Kiel, im Juni 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber die Edamerkäsereifung.

(Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.)

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Mit 1 Figur.

In Bd. XVII. p. 491 ff. dieser Zeitschrift findet man auseinandergesetzt, weshalb die Ursache der Käsereifung unter den Bakterien zu suchen ist, welche, sozusagen, die Vorinfektion des Käses bilden. Unter Vorinfektion verstehe man in diesem Falle nur diejenigen Bakterien, welche zu einem baldigen Absterben verurteilt sind, weil die bald eintretende Milchsäuregärung die Verhältnisse im Nährboden so abändert, daß dieser ihren Lebensbedingungen nicht weiter entspricht. Die Bakterienmenge, welche die Vorinfektion bildet, steht in engerem Zusammenhang mit der mehr oder weniger sauberen Milchgewinnung, ist aber meistens sehr groß zu nennen, während die Zahl der Bakterienarten, welche vertreten sind, gleichfalls nicht unbeträchtlich ist. Unter diesen findet man einige, welche die charakteristische Eigenschaft besitzen, die Gelatine, auf welcher sie gezüchtet werden, zum Zerfließen zu bringen, welchen also das Vermögen innewohnt, Eiweißstoffe anzugreifen oder, mit anderen Worten, ein proteolytisches Enzym abzuscheiden. Ihre Tätigkeit würde also in der Weise aufgefaßt werden müssen, daß, wiewohl die Bakterien selber nach kurzer Zeit absterben, ihr Enzym in dem Käse zurückbleibt und dort seinen Einfluß geltend macht. Weil nun die Käsereifung in der Hauptsache in Abänderungen der Parakaseine bestehen muß, lag es auf der Hand, Versuche mit einer verflüssigenden Bakteriensorte, in unserem Falle einem Diplococcus, anzufangen. Der Versuch umfaßte zwei Serien Käse. Bei der ersten wurden als Impfmaterial benutzt: Reinkulturen von Milchsäurefermenten, stäbchenförmige, fakultative Milchsäurefermente und die verflüssigenden Diplo-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kokken, während in der zweiten Serie bloß ein Milchsäureferment und die verflüssigende Bakteriensorte zur Verwendung kamen; die stäbchenförmigen fakultativen Milchsäurefermente wurden alsdann also ausgeschaltet. Dies letztere geschah zur Prüfung des Einflusses, welchen die Stäbchen unter diesen Umständen ausüben.

Die Isolierung des Milchsäureferments geschah in der gewöhnlichen Weise mittels Molkengelatine, nur wurde für die Reinkultur eine Sorte gewählt, welche weniger stark wuchs, also bei der Impfung in Milch dieselbe nicht schnell in Gerinnung versetzte, weil die schnell sich entwickelnden Varietäten Veranlassung zu dem Fehler „kurz“ (kreidige Käse) geben.

Bei der Isolierung der stäbchenförmigen, fakultativen Milchsäurebakterien wurde, wie früher, die bekannte Käsebouillon benutzt, nur gab es eine Aenderung in der Züchtungsweise, welche im vorigen Jahre beschrieben wurde. Anstatt vollständig aufgefüllte Glasbehälter wurden jetzt langhalsige Kölbchen verwendet mit einem Inhalt von etwa 100 ccm. Am meisten geeignet dazu zeigten sich hier die Kölbchen, welche für die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren in Butter nach der Methode Reichert-Meissl-Wollny Verwendung finden. In der Nähe der Halsöffnung wird ein Rohr von geringer Dimension angeschmolzen, während der Boden soweit aufgeblasen wird, daß ein kleiner Rundkolben entsteht. Nach der Sterilisation werden etwa 30 ccm Käsebouillon hineingebracht, diese mit Käse geimpft, und man läßt das angesetzte Rohr kurz über dem Ansatz einigermaßen einlaufen. Der also vorbereitete Apparat wird in ein Wasserbad von 24° C gesetzt, die Luft mittels einer Quecksilberluftpumpe daraus entfernt, und nachdem die Flüssigkeit einige Minuten gekocht hat, das Kochen soll nicht zu lange fortgesetzt werden, weil sonst die Bouillon zu stark eingeengt wird, wird das Rohr bei der Verengung zugeschmolzen. Nach Abkühlung wird der Rundkolben umgekehrt und in den Thermostaten gestellt; die Flüssigkeit steht alsdann im Halse, und daran sind einige Vorteile geknüpft. Erstens gelangen die gebildeten Bakterien durch Absetzen in die ausgezogene Spitze, wo sie leicht gesammelt und vom Kolben getrennt werden können, und zweitens züchtet man in dieser Weise in tiefer Schicht. Folglich können kleine Spuren Sauerstoff, welche eventuell zurückgeblieben sind, höchstens an der Oberfläche ihren Einfluß gelten machen. Die Isolierung der Bakteriensorten in der abgesetzten Bakterienmasse geschah bekannterweise mittels Molkengelatine. Der verflüssigende Diplococcus wurde in Reinkultur gebracht durch Verwendung von Molkengelatine mit 5 Proz. Kochsalz, zwecks höherer Sicherheit, daß eine Art gewonnen wurde, deren Enzym den Salzgehalt vertragen konnte, wie man denselben im Käse antrifft.

Bei den Versuchen gebrauchten wir sterilisierte Milch für die Kulturen des Milchsäureferments und des stäbchenförmigen, fakultativen Milchsäureferments, für die verflüssigenden Diplokokken wurden aber Kulturen in Molkengelatine mit 5 Proz. Kochsalz angewandt, weil durch diese Sorten in Milch nach längerer Zeit stark bitter schmeckende Abspaltungsprodukte der Kaseine entstehen, welche an dem Bruch haften und dem Käse einen weniger gewünschten Geschmack verleihen würden.

Die Notizen bezüglich der Versuchskäse folgen untenstehend und zwar erst diejenigen der ersten Serie:

17. Okt. 1906. Hergestellt aus ± 46 l aseptisch gemolkener Milch 2 Käse gezeichnet C und MS.

C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält: 1 Kölbchen Milch (40 ccm) eines Milchsäurefermentes, stammend aus „fadenziehender Molke“. Diese Art braucht 5 Tage bei 22° C

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zur Gerinnung der Milch; weiter 2 Kölbchen Milch eines stäbchenförmigen fakultativen Milchsäureferments, herrührend aus einem 2 Monate alten Käse. Dieses Stäbchen brachte die Milch nicht einmal nach einem Monat bei 22° C zur Gerinnung; die Säurebildung war also sehr gering. Auch noch 2 Kölbchen 5 Proz. kochsalzhaltiger Molkengelatine mit einem verflüssigenden Diplococcus aus frisch gemolkener Milch. Die Gelatine war innerhalb 8 Tagen vollständig verflüssigt.

Am 5. April 1907, also nach vollen $5^1/_2$ Monaten, wurden beide Käse untersucht. Der Kontrollkäse zeigt sich vollkommen unverändert; der Versuchskäse MS war geschmeidig, gab augenscheinlich den Eindruck eines gut gereiften Käses, entbehrte aber des Käsegeschmackes und Käsegeruches.

24. Okt. Bereitet von ± 46 l aseptisch gewonnener Milch 2 Käse, gezeichnet C und MS.

C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält: 1 Kölbchen (40 ccm) eines Milchsäureferments aus fadenziehender Molke, Gerinnungszeit dieser Varietät 4 Tage bei 22° C; 2 Kölbchen derselben stäbchenförmigen Bakterie, wie sie am 17. Okt. gebraucht wurde; 2 Kölbchen 5 Proz. Kochsalz haltenden Molkengelatine (60 ccm) mit demselben Diplococcus, wie er am 17. Okt. gebraucht wurde.

Am 5. April 1907, also nach etwa $5^1/_2$ Monaten, wurden die Käse untersucht. Der Kontrollkäse C war nicht verändert; der Probekäse MS war geschmeidig, machte für das Auge den Eindruck eines guten Käses, es fehlte aber der Käsegeschmack und Käsegeruch.

31. Okt. 1906. 2 Käse, gemacht von ± 48 l aseptisch gemolkener Milch und gezeichnet C und MS.

C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält genau dieselben Reinkulturen wie der Käse vom 24. Okt.

Am 5. April 1907, also nach etwa 5 Monaten, war in C keine Aenderung aufgetreten, während der Versuchskäse MS geschmeidig war und augenscheinlich Reifung zeigte, aber weder Käsegeschmack und Käsegeruch besaß.

7. Nov. 1906. Hergestellt aus ± 46 l aseptisch gemolkener Milch 2 Käse, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse; MS enthält dieselben Reinkulturen in derselben Menge wie der Käse vom 24. Okt.

Am 5. April 1907, also nach etwa 5 Monaten untersucht, zeigt C keine Aenderung. MS ist wiederum geschmeidig, augenscheinlich gereift; Käsegeschmack und Käsegeruch fehlen aber.

Hiermit wird die erste Serie Versuchskäse als abgeschlossen betrachtet und zur zweite Versuchsserie geschritten.

14. Nov. 1906. 2 Käse, hergestellt aus ± 54 l aseptischer Milch, gezeichnet C und MS.

C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält: 1 Kölbchen Milch (40 ccm) mit einem Milchsäureferment aus „fadenziehenden Molken" geimpft. Dieses war dasselbe, welches am 24. Okt. benutzt wurde. 2 Kölbchen (60 ccm) 5 Proz. Kochsalz haltender Molkengelatine mit verflüssigendem Diplococcus aus Milch, gleichfalls derselbe, der bei der vorigen Serie zur Anwendung kam.

Am 5. April 1907, also nach rund $4^1/_2$ Monaten, ist der Kontrollkäse unverändert, während der Versuchskäse MS geschmeidig und für das Auge gereift ist, aber ebensowenig Käsegeschmack und Käsegeruch aufzuweisen hat.

21. Okt. 1906. Gemacht von ± 52 l aseptisch gewonnener Milch.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2 Käse, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse. MS enthält dieselben Reinkulturen und dieselben Mengen, wie der Käse vom 14. Nov.

Am 5. April 1907, also nach $4^1/_2$ Monaten, wurden beide Käse geprüft und zeigt C sich unverändert; MS ist geschmeidig und zeigt einen guten Aspekt; Käsegeschmack und Käseruch fehlen aber.

30. Nov. 1906. 2 Käse, bereitet von ± 50 l aseptisch gemolkener Milch, gezeichnet C und MS.

C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält dieselben Kulturen in gleicher Menge, wie der Käse vom 14. Nov.

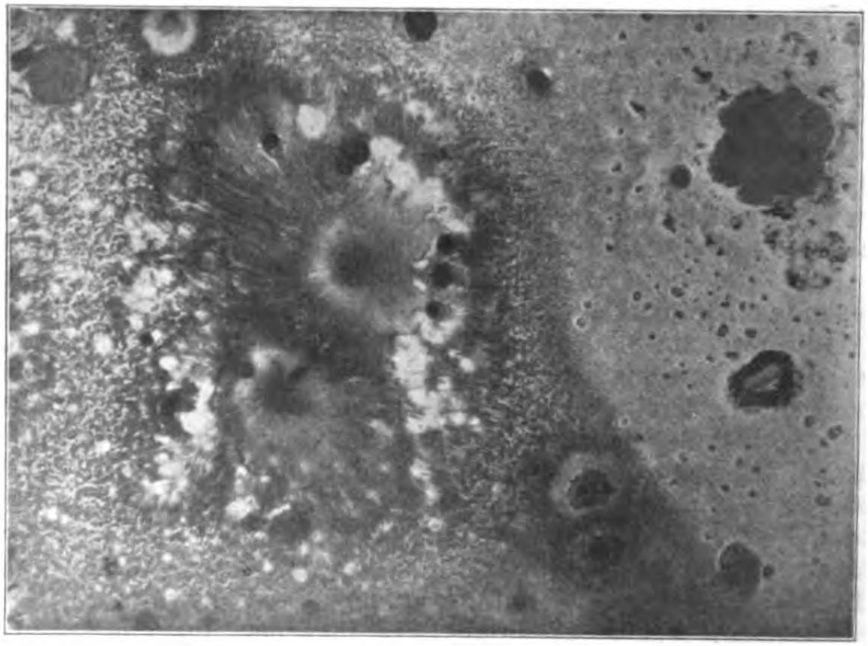
Am 5. April 1907, also nach gut 4 Monaten, war C unverändert geblieben, während MS geschmeidig war, augenscheinlich gereift, aber weder Käsegeschmack noch Käsegeruch zeigte.

Mit diesem letzten Versuche wurde die zweite Serie abgeschlossen. Aus der Untersuchung aller dieser Versuchskäse, welche stattfand nach einem Zeitverlauf, in welchem unter normalen Verhältnissen eine sehr *gute* Reifung zu stande kommt, geht hervor, daß nie eine normale Reifung eintrat. In allen Fällen waren die sichtbaren und fühlbaren Merkmale der Reifung freilich anwesend, der Käsegeruch und -geschmack fehlte aber gänzlich. Keine der angewandten Mikroorganismen waren also im stande, die gewünschten Erscheinungen hervorzurufen; zwar sind es die gewöhnlichen und fakultativen Milchsäurefermente, welche jedes für sich Anteil haben an der geschmeidigen Umänderung des Käses, allein die verflüssigenden Diplokokken dürfen als die spezifischen Bildner von Käsegeruch und -geschmack nicht angesehen werden.

Was den Unterschied zwischen den beiden Versuchsreihen anbelangt, so bestand dieser hauptsächlich in der großen Geschmeidigkeit der Käse in der 1. Serie, welche ihre Ursache findet in der Verwendung der fakultativen Milchsäurefermente in dieser Serie. Faßt man die Ergebnisse, welche aus diesen Versuchen hervorgehen, zusammen, so bekommt man die Ueberzeugung, daß diejenigen Bakterien, welche die Gelatine verflüssigen und teilweise die Vorinfektion des Käses bilden, keine bedeutende Rolle bei der Käsereifung spielen. Es gibt also in der Milch andere Bakterien, welche gleichfalls Eiweißkörper angreifen, und dieser Tatsache zufolge stellt sich die Frage, ob die Verflüssigung der Gelatine eine spezifische Eigenschaft der eiweißzerlegenden Mikroorganismen im allgemeinen sein muß. Bis jetzt gilt fast als Axioma, daß alles, was Eiweiß peptonisiert, auch Gelatine in flüssigen Zustand überführt. Freilich greifen die gelatineverflüssigenden Bakterien alle Eiweißkörper an, aber das Umgekehrte dieses Satzes braucht deshalb nicht richtig zu sein. Daß tatsächlich in der Milch Bakterien vorkommen, welche Eiweißstoffe *zersetzen*, ohne die Gelatine zu verflüssigen, kann auf einfache Weise nachgewiesen werden. Nimmt man eine Petri-Schale und gießt darin Molkengelatine mit 5 Proz. Kochsalz aus und übergießt nach der Gerinnung dieselbe mit frisch gemolkener Milch, so entsteht durch Verdampfung der Flüssigkeit und durch Aufsaugen des Serums aus der dünnen Milchschicht in die Gelatine eine dünne Haut von Kasein. Nach wenigen Tagen werden die Bakterienkolonieen sichtbar und einige zeigen unter der Lupe federförmige Bildungen in der Kaseinschicht, welche sich von der Kolonie als Mittelpunkt ausdehnen und Aehnlichkeit mit Eisblumen auf den Fenstern im Winter zeigen (siehe Figur). Diese Erscheinung tritt am schönsten auf, wenn man salzhaltige Gelatine verwendet; auf gewöhnlicher Gelatine ist die Federbildung nicht so gut ausgeprägt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Bildung derartiger Figuren findet ihren Grund in einem eiweißspaltenden Enzym, das von den Bakterien abgeschieden ist und nicht in die Gelatine hineindringt, weil dieselbe nicht verflüssigt ist und sich an der Oberfläche ausdehnen muß. Dabei fließt es durch die dünne Kaseinschicht und bildet durch Lösung der Kaseine darin ganz kleine Kanäle, deren Boden umso eher die Gelatine erreicht, je dünner die Kaseinschicht stellenweise ist. An einigen Stellen wird die Gelatine schon sichtbar, während gleich daneben noch eine mattweiße Schicht vorhanden ist; infolgedessen wechseln weiße und durchsichtige Streifen miteinander ab, welche den Eindruck von Federn machen. Daß tatsächlich diese Bakterien, welche gleichfalls die Diplokokkenform besitzen, eiweißspaltende Enzyme abtrennen, geht hervor, wenn man sie in sterilisierte Milch bringt. Nach ca. 7—12 Tagen, bei 22° C, gerinnt die Milch unter Säurebildung (mit



Die Photographie ist mit durchfallendem Lichte aufgenommen und ist ein Teil einer Plattenkultur frischer Milch auf salzhaltiger Molkengelatine. Der feine, sandkörnerähnliche Teil stellt die eingetrockneten Kaseine dar. Einige Kolonieen, unter denen zwei sehr deutliche, haben die federförmigen Figuren gebildet; daneben sind verschiedene Kolonieen dargestellt durch schwarze Flecke, welche überhaupt keine Einwirkung auf die Kaseine zeigen. Vergr. 4 fach.

$^1/_{10}$ normal NaOH und Phenolphthalein titrierte diese Kultur 4 ccm Säure) und mittels der Biuretreaktion können Peptone nachgewiesen werden. Durch die Bildung der Säure zeigt sich, daß die peptonisierende Substanz in einer sauren Umgebung ihre Tätigkeit entfalten kann, also ein Unterschied von dem Enzym, produziert durch die gelatineverflüssigenden Bakterien, welche dazu eine alkalisch reagierende Umgebung brauchen. Dieser Unterschied zwischen beiden Enzymen zeigt, daß ersteres mehr zu den peptonähnlichen gehört, während das zweite sich mehr den Trypsinen nähert.

Die Frage außer Betracht lassend, inwieweit diese Bakterien Einfluß auf die Käsereifung ausüben, eine Frage, welche nur durch direkte Versuche entschieden werden kann, wird man in dieser Richtung doch schon eine Andeutung finden durch die Prüfung, ob der Käse ein Enzym enthält, welches die Gelatine verflüssigt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu diesem Zwecke wurde ein kondensiertes Käseextrakt hergestellt in derselben Weise, wie früher bei der Bereitung der Käsebouillon angegeben wurde, nur mit dem Unterschiede, daß eine Temperatur von 40° C nicht überschritten wurde und die Bouillon des 5 Tage alten Käses im Vakuum bei 30—40° C eingeengt wurde. Die anwesenden Enzyme werden alsdann zu möglichst kleinem Volumen reduziert und konzentriert. Sollten sich also unter diesen Enzyme vorfinden, welche die Gelatine verflüssigen, so muß, wenn man diese kondensierte Bouillon auf sterile Gelatine bringt, Verflüssigung eintreten, wenn sie nicht in sehr geringer Quantität vorkommen. Dieser Versuch ist verschiedene Male wiederholt worden, gab aber immer ein negatives Resultat, so daß, abgesehen von obengenanntem Einwand, es höchst wahrscheinlich ist, daß derartige Enzyme nicht in dem Käse auftreten und also Bakterien, welche sie abtrennen, ohne Bedeutung für die Käsereifung sind.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Identität des Rotzbacillus des Oelbaumes.

Von Dr. **L. Petri,**

Assistent an der kgl. Versuchsstation für Pflanzenkrankheiten in Rom.

Mit 5 Figuren.

In den letzten Jahren haben sorgfältige Untersuchungen zur tieferen Kenntnis des Rotzes (rogna) oder der Tuberkelkrankheit (tubercolosi) des Oelbaumes sehr viel beigetragen, nur sind die verschiedenen Autoren bezüglich der Identität der rotzerregenden Mikroorganismen zu sehr abweichenden Resultaten gekommen.

Zuerst isolierte Savastano (4) aus dem Tuberkelgewebe eine bewegliche, strohgelbe Kolonieen liefernde, langsam und nur bei hoher Temperatur Gelatine verflüssigende Bakterie. Die strohgelbe Farbe der Kolonieen war auf Kartoffeln besonders prägnant. Infektion gesunder Oelbäume mit dieser Bakterie ergab typische Tuberkelbildung.

Voglino (12) beschreibt weiße oder gelbumrandete Kolonieen, welche von einer ebenfalls virulenten, aus Knöllchen isolierten Bakterie auf Gelatine erzeugt wurden.

Demgegenüber hält Schiff-Giorgini (8—10) einen sporenbildenden, stark Gelatine verflüssigenden Bacillus für den Erreger der Rogna. Er bildet weißliche, wenig erhabene, in eine gefaltete, trockene, aus sporenhaltigen Elementen bestehende Haut übergehende Kolonieen und ruft, in gesunde Zweige künstlich eingeführt, reichliche Knollenbildung hervor.

Erwin G. Smith (7) konnte dagegen als virulente Form nur ein weiße Kolonieen bildendes, weder Gelatine verflüssigendes noch sporogenes Stäbchen aus Oelbaumtuberkeln züchten, welche aus Kalifornien und Italien kamen.

A. Berlese beschreibt[1]) als neu die kleinen, zusammengedrängten und miteinander verschmelzenden Tuberkel, die Savastano als Frostfolgen bereits besprochen und abgebildet hatte (1, Taf. I, Fig. 16), und stellt sie den größeren, rundlichen, oft gestielten, durch Knospen- oder Blattpolsterinfektion entstehenden Knöllchen gegenüber. Aus den ersten

---

1) **Prof.** A. Berlese und Dr. Schiff-Giorgini stellten mir ihr Material zum näheren Studium freundlichst zur Verfügung.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tuberkeln gewann er einen Bacillus mit perlweißen, auf Kartoffeln zähen Kolonieen, welcher dem Schiff-Giorginischen Sporenbacillus entspricht; aus den letzteren eine gelbe Kolonieen liefernde Art (1). Er scheint aber keine Infektionsversuche vorgenommen zu haben.

Fassen wir die Resultate der genannten Autoren zusammen, so müßten wir vier Rotzerreger annehmen, und zwar:

Gelatine verflüssigende Arten	asporogene	1. Savastanos bezw. Voglinos Bakterie, 2. Bacillus No. 2 von Berlese.
	sporogene	3. Schiff-Giorginis Sporenbacillus = Bacillus No. 1 von Berlese.
Gelatine nicht verflüssigende Art	asporogen	4. Smithsche Bakterie.

Smith leugnet die Virulenz des Schiffschen Bacillus und hält Savastanos Kulturen für unrein, indem er mitteilt, daß weiße oder gelbe saprophytische Formen aus den Rognatuberkeln oft isoliert werden können: „Thus there have been obtained from such knots by the writer and his assistants several kinds of fungi and also white and yellow non pathogenic bacterie" (l. c. p. 199—200). Ich sehe auch in diesem Ausspruch Smiths eine Erklärung für die abweichenden Resultate der Autoren, welche durch ausgewachsene Rotzknollen bewohnende und die eigentlichen Erreger auf Gelatine übertreffende Saprophyten getäuscht wurden. Smith erwähnt eigentlich keine Infektionsversuche mit diesen angeblichen Saprophyten und er könnte zu obiger Behauptung rein aprioristisch gekommen sein, während Savastano und Schiff-Giorgini die Pathogenität ihrer Bakterien aus gelungenen Infektionsversuchen erschließen.

Lassen wir auch die hypothetische Mitwirkung eines Pilzes nach Vuillemin (14) beiseite, so ersehen wir aus dieser historischen Skizze, daß die Frage durch die kurze Mitteilung Smiths noch keineswegs gelöst war; darum übernahm ich seit 1905 eine gründliche Revision der Resultate dieser Autoren.

* * *

In Plattenkultur auf Agar mit Pepton und 1 Proz. Glukose ergibt die Aussaat des entsprechend verdünnten Inhaltes aus jungen, runden bezw. ausgewachsenen Knollen nach 24 Stunden bei 15—18° C reichliche Bildung gelber Kolonieen, welche aus Ascobacterium luteum Babes bestehen. Diese Bakterie ist in den Knöllchen so zahlreich vorhanden, daß man davon Reinkulturen durch einfaches Streichen einer Platinnadel auf der Schnittoberfläche solcher äußerlich sorgfältig sterilisierten Tuberkel erhalten kann. Diese Tatsache, die schon Berlese auffiel, konnte ich nicht nur mit dem von diesem Forscher eingesandten, sondern auch mit aus Tivoli, Pisa und Lecce herkommendem Material feststellen.

Säet man in der genannten Weise den Inhalt aus den kleinen, zusammengehäuften, besonders auf den Internodien sitzenden Knöllchen aus, so entwickelt sich in Plattenkultur meistens der Schiff-Giorginische sporogene Bacillus; nur selten kommen die lichtgelben Kolonieen von Ascobacterium zum Vorschein. Aehnliche Verhältnisse fand Berlese bei Herbstmaterial; im Frühling bleiben die besäten Platten oft ganz steril. Indessen wäre es verfehlt, sich mit diesem Ergebnis zu begnügen, vielmehr zeigt eine eingehendere Forschung, daß die Sachlage eine ganz andere ist.

Nehmen wir im Frühling als Ausgangsmaterial die jungen gregarischen Knöllchen auf den Internodien oder vereinzelte Knollen auf den

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Knoten und säen wir die verdünnte Aufschwemmung eines ganz geringen Bruchteiles ihres bakterienhaltigen Parenchyms nach gründlicher äußerer Sterilisation aus, so kommen zunächst die gelben und die sporogenen Bakterien ebenfalls zur Entwickelung, nach 4—5 Tagen aber, wenn das Wachstum beider aufhört, werden zahlreiche, beinahe farblose Kolonieen eines dritten Organismus sichtbar, welche bald eine milchweiße Farbe annehmen. Sie bestehen aus asporogenen Stäbchen, die Gelatine *nicht* verflüssigen und dem Smithschen Bacillus durchaus entsprechen. Die Isolierung läßt sich auf schwach saurem oder neutralem Agar mit Bohnenextrakt leicht durchführen. Dem Auftreten dieses Bacillus in Plattenkulturen geht aber, wie gesagt, die Entwickelung von Ascobacterium luteum und, in sehr beschränktem Maße, des Schiff-Giorginischen Bacillus regelmäßig voraus.

Diese drei Mikroorganismen sind in den Oelbaumknöllchen immer und gleichzeitig vorhanden, nur gewinnt entweder die eine oder die andere Art die Oberhand. Darum kann Aussaat aus älteren Knollen ungenaue Ergebnisse liefern, insbesondere des Ascobacterium halber, dessen Kolonieen anfänglich (1.—2. Tag) farblos sind und mit den viel langsamer wachsenden weißen Kolonieen des Smithschen Bacillus leicht verwechselt werden können. War die Aussaat nicht sehr verdünnt, so verschmelzen die gelben Kolonieen leicht mit den weißen zu strohgelben Mischkolonieen.

Um die Gegenwart des Smithschen Bacillus neben Ascobacterium makroskopisch festzustellen, muß man 7—10 Tage abwarten. Die tiefliegenden Kolonieen beider Bacillen haben beinahe dieselbe gelbliche Farbe, und die nicht ganz oberflächlichen Ascobacterium-Kolonieen erinnern des Farbstoffmangels halber an den Smithschen Bacillus. Nur Kolonieen, die 6—7 Tage nach ihrem Auftreten rein weiß bleiben, gehören der letztgenannten Art an. Mikroskopische Merkmale führen zur sicheren Unterscheidung beider Bacillen, wie wir bald sehen werden. Immerhin dürfen die Resultate von Berlese keineswegs als genau angesehen werden, sie rühren entweder von unzureichenden Beobachtungen an Plattenkulturen oder von schlechter Bereitung des Aussaatmateriales her.

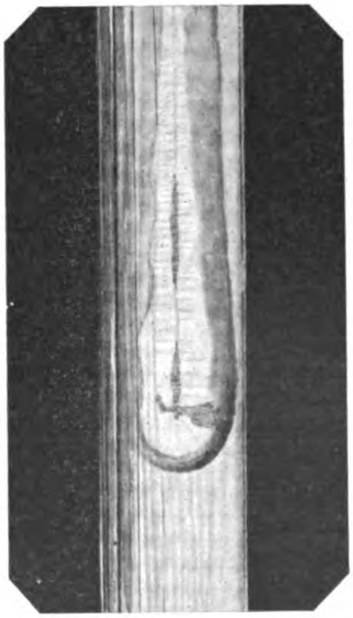


Fig. 1. Scheidung des Smithschen Bacillus (weißer Teil der Strichkolonie) von Ascobacterium luteum (gestrichelter Teil). Impfmaterial einer unreinen Ascobacterium-Kolonie entnommen.

Wie gesagt, schmelzen nebeneinander wachsende Kolonieen von Ascobacterium und Smithschem Bacillus oft zu strohgelben Mischkolonieen zusammen, welche oft im Wachstum zurückbleiben oder gar absterben. Manchmal setzt aber die eine Bakterie ihr Wachstum unter Zurückdrängung der anderen Art fort. Fig. 1 zeigt einen solchen interessanten Fall. Aus einer anscheinend reinen, lichtgelben Kolonie von Ascobacterium wurde Material auf Bohnenextraktagar im gezeichneten Röhrchen gestrichen; nach einiger Zeit trat aber der Smithsche Bacillus auf und

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gewann die Oberhand (weißer Teil), während das Ascobacterium eine beschränkte Entwickelung zeigte (gestrichelter Teil)[1]).

Solche Beobachtungen erklären die Leichtigkeit, womit bei geringer Verdünnung des Aussaatsmateriales und dichtgedrängtem Wachstum anscheinend reine Ascobacterium-Kolonieen zu erhalten sind, welche aber den weißen Bacillus enthalten. Dadurch wurden offenbar Savastano und Voglino bei der Aufstellung ihrer gelben oder gelbweißen Bakterien als Rotzerreger getäuscht, denn wir werden bald sehen, daß Ascobacterium keine pathogene Wirkung entfalten kann. Die Savastanosche Art muß zurückgezogen werden und nur die drei genannten Bakterien dürfen als konstante Bewohner der Oelbaumknöllchen beibehalten werden.

Folgende Tabelle enthält die morphologischen Merkmale und kulturellen Eigenschaften der 3 Arten, welchen wir den Sammelnamen Bacillus Oleae (Arc.) Trev. zunächst erhalten lassen:

Bacillus Oleae (Arc.) Trev.

Bacillus Oleae α (Smith).	Bacillus Oleae β (Schiff).	Bacillus Oleae γ (Berlese) = „ „ tuberculosis (Savast. p. p.) = Ascobacterium luteum Babés.
Beweglich, mit mehreren Polargeißeln, zu Fäden nicht vereinigt. Weiße, ganzrandige Kolonieen. Verflüssigt Gelatine nicht, die Milch gerinnt nicht und bleibt neutral oder alkalisch; erzeugt keine Sporen, reduziert weder Nitrate noch Lackmus. In Cohnscher Lösung ruft er Abscheidung zahlreicher Magnesiumammoniumphosphatkristalle hervor; bildet kein Gas und ist streng aërob.	Beweglich, peritrich, von verschiedener Größe, oft zu Fäden vereinigt. Auf Bouillon bildet er einen gelblichweißen, gefalteten Ueberzug. Weiße, schildförmige, eingebuchtete, gelappte Kolonieen, die in eine halb durchscheinende, gefaltete, trockene Haut sporenhaltiger Elemente übergehen. Milch gerinnt und wird wieder aufgelöst, die Gelatine verflüssigt. Aërob.	Beweglich, peritrich, von verschiedener Größe, zu Ketten nicht vereinigt, bildet Zooglöen und Kapseln. Zuerst weiße, fast farblose, dann lichtgelbe Kolonieen mit einem aus gekapselten Elementen bestehenden Zentralkerne. Verflüssigt nur langsam und trichterförmig die Gelatine, die Milch gerinnt nicht und bleibt neutral. Reduziert weder Nitrate noch Lackmus. Bildet keine Sporen. In Cohnscher Lösung Ausscheidung von Magnesiumammoniumphosphatkristallen. Keine Gasbildung. Aërob.

* * *

Sämtliche Autoren (außer Berlese) haben ihre Bakterien auf die Pathogenität für den Oelbaum mit Erfolg geprüft, so daß drei Rotzerreger anzunehmen wären. Nun hatte aber Savastano offenbar unreine Kulturen vor sich, welche Ascobacterium neben dem echten Erreger enthielten; Schiff-Giorgini widmet den Infektionsversuchen nur wenige Worte, woraus ist schwer zu entnehmen, ob er mit Freiland-, Topf- oder aus Samen gezüchteten Pflanzen gearbeitet hat, was doch die Prädisposition und den Erfolg der künstlichen Infektion wesentlich beeinflussen kann. Nur Smith teilt genaue Daten über die Art und den Gang der Infektion mit, und seine Angaben sind neuerdings bestätigt worden[2]).

1) Bei wirklich reinen Kulturen von Ascobacterium luteum erscheinen zuweilen nach mehreren Ueberimpfungen farbstofflose Generationen, welche aber immer noch die charakteristisch gekapselten, vereinzelten oder zu Zooglöen vereinten Zellen enthalten.

2) Cfr. Smith, C., Botan. Gazette. Vol. XLII. 1906. p. 301.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Indessen haben diese Forscher an verschiedenen Orten, möglicherweise mit verschiedenem Ausgangsmaterial, gearbeitet, so daß eine Wiederholung der Infektionsversuche erwünscht war.

Impfungen wurden von mir an zwei- bis dreijährigen Zweigen und an zarten Zweigspitzen vorgenommen, teils auf Blattpolstern nach Entfernung des Blattstieles, indem ich die Platinnadel nur wenig tief in die Wunde einimpfte und die entblößte Fläche nachher mit einem Oelwachskitt überzog, teils auf Internodien nach Auswaschung der Stelle mit Sublimat und sterilem Wasser; auch diese Wunden wurden sofort gekittet. Die benutzten Oelbäume (var. Leccia) stammten aus Samen, waren absolut rotzfrei und im Topfe gezüchtet[1]).

Impfungs-datum	Benutzter Organismus	Anzahl der Impfungen	Erfolg
12. Mai 1906	Bacillus Oleae β	14	17. Juli 1906. Keine Hyperplasie an den Impfungsstellen. Die bakteriologische Untersuchung des Gewebes zeigt aber die Gegenwart des Bacillus.
2. Okt. 1906	Bacillus Oleae β	6	15. März 1907. In einem einzigen Blattpolster bemerkt man eine kleine (1,5—2 mm), braunrötliche Anschwellung, die aber nur Wundkallus ist und zwei lysigene Höhlen enthält, welche mit dem geimpften Bacillus erfüllt sind, wie die Plattenkultur bestätigt.
2. Okt. 1906	Bacillus Oleae γ	11	15. März 1907. Keine Spur von Tuberkeln an den Impfungsstellen.
3. Mai 1907	Bacillus Oleae α	5	25. Juni 1907. Am 15. Tag war Anschwellung der Impfungsstellen an verholzten Aestchen bereits sichtbar. Nach 53 Tagen schön ausgebildete Knöllchen (vgl. Fig. 2). Auf krautigen Zweigen wird die Hypoplasie erst nach 1 Monat sichtbar[2]).
3. Mai 1907	Bacillus Oleae β	8	25. Juni 1907. Kein Zeichen äußerer Anschwellung; innerlich keine Höhle und kein Bakterium vorhanden.
3. Mai 1907	Bacillus Oleae γ	9	25. Juni 1907. Keine Spur von Anschwellung an den Impfungsstellen.

Aus diesen Impfungsversuchen erhellt, daß nur der Smithsche Bacillus den Rotz des Oelbaumes hervorrufen kann; Savastano hatte mit unreinem Material gearbeitet und der Sporenbacillus von Schiff-Giorgini kann höchstens eine gesteigerte Callusreaktion erwecken.

* * *

Damit eventuelle Forschungen weiterer Autoren die genügend geklärte Sachlage nicht wieder in Verwirrung setzen, wollen wir jetzt auf einige unserer Beobachtungen etwas näher eingehen.

Der Beschreibung und dem positiven Erfolg der Infektionsversuche Savastanos entnehmen wir, wie oft betont, daß er die Mischkolonieen von Bac. Oleae α und γ vor sich hatte. Das Fehlen jeglichen Antagonismus zwischen den beiden Bakterien bewirkt sehr leicht eine Verschmelzung der noch ganz kleinen, dem bloßen Auge unsichtbaren Ko-

1) Die Pflanzen kamen aus dem Mustergarten des Herrn R. Pecori in Florenz.

2) Plattenkulturen mit dem Inhalte dieser Knollen haben $1^1/_2$ Monate nach ihrem Hervortreten nur Reinkolonieen von Bacillus Oleae α (Smith) ergeben.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lonieen zu einer einzigen Kolonie, um so mehr als die beiderlei Kolonieen im ersten Entwickelungsstadium schwer zu unterscheiden sind, oft wird die eine Kolonie am 3.—4. Tag gelb (Ascobacterium), die andere bleibt weiß (Bac. Oleae α). Sogar die Gegenwart des Zentralkernes aus gekapselten Elementen gestattet an und für sich kein sicheres Urteil über die Reinheit der Ascobacterium-Kolonieen.

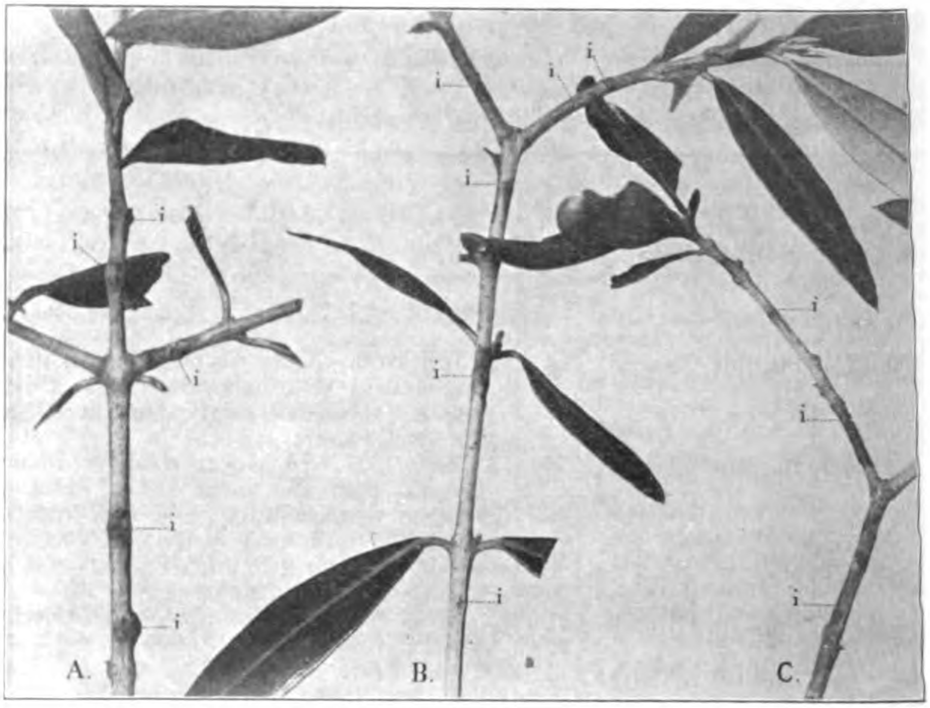


Fig. 2. Oelbaumästchen (var. Leccia), *A* mit Bacillus Oleae α, *B* mit Bac. Oleae β, *C* mit Bac. Oleae γ geimpft. *i* Impfungsstellen. Impfung den 3. Mai. Aufnahme den 25. Juni 1907.

Verdünnt man aber das Aussaatmaterial 4—5 mal, so gewinnt man leicht wirklich reine Kolonieen des einen oder anderen Organismus.

Säet man beide Arten auf einer Platte dicht nebeneinander, so führt gewöhnlich die bald folgende Vereinigung beider Kolonieen unter Entartung und Absterben des einen oder anderen Bacillus zum Wachstumsstillstand des Ganzen. Welche Bakterie die Oberhand gewinnt, das hängt mit dem Alter und der Ueppigkeit des Ascobacterium zusammen, keineswegs mit dem Mengenverhältnis der zusammengebrachten Bakterien. Bringt man Material aus einer Kolonie des Bacillus α mit Material aus einer alten oder schwachen Kolonie des Bacillus γ in Berührung, so entsteht eine zunächst farblose, dann strohgelbe, zuletzt korkgelbe Kolonie, welche indes innerhalb 4—5 Tagen zu wachsen aufhört. Mikroskopisch läßt sich in diesem Falle die rasche Vermehrung des Bacillus α verfolgen, die aber bald stillsteht, und die neugebildeten Individuen schwellen zu großen, teilungsfähigen, wenig lebhaften Involutionsformen an (Fig. 3). Ascobacterium bleibt dabei anscheinend unverändert, verliert aber die Teilungsfähigkeit, denn die Ueberimpfung solcher Kolonieen liefert keine Entwickelung.

Vereinigt sich dagegen Bacillus Oleae α mit einer üppigen Kolonie des Bacillus γ, so behält diese ihre lichtgelbe Farbe und setzt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das Wachstum fort, ohne indes die Dimensionen der reinen Kolonieen zu erreichen (4 — 5 cm). Außerdem bilden sich keine oder nur wenige Kapseln in den Mischkolonieen.

Bei der weiteren Entwickelung spalten sich zuweilen die Mischkolonieen in die beiderlei reinen Bestandteile, wie auch Fig. 1 zeigt.

Streicht man Material aus den Tuberkeln direkt auf Agar in Röhrchen, so bekommt man nur dürftige Entwickelung einer beschränkt wachsenden, strohgelb und bald korkgelb werdenden Kolonie, die bald darauf abstirbt, oder es bleibt der Strich überhaupt steril. Beide Tatsachen lassen sich aus der Gegenwart beider Bakterien in den lysigenen Höhlen des Knöllchens leicht erklären.

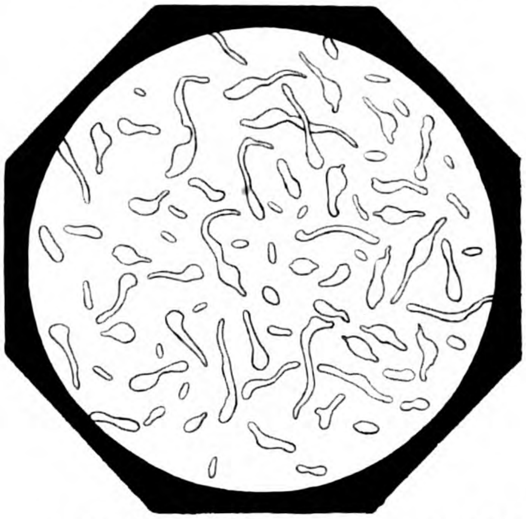


Fig. 3. Involutionsformen von Bac. Oleae α bei Gegenwart von Ascobacterium luteum. Vergr. 600/1.

Welche symbiotische Wechselbeziehungen zwischen den 3 Bakterien im Tuberkel herrschen, das ist mir vorläufig noch unbekannt; es ist aber sichergestellt, daß Bacillus α die Hilfe der beiden anderen zur Hervorbringung der Tuberkel keineswegs braucht und daß er von ihrer Gegenwart im Tuberkel auch nicht gestört wird, was übrigens unter gewissen Umständen auch bei künstlichen Kulturen stattfindet, wie es oben des Näheren erörtert wurde (vgl. Fig. 1).

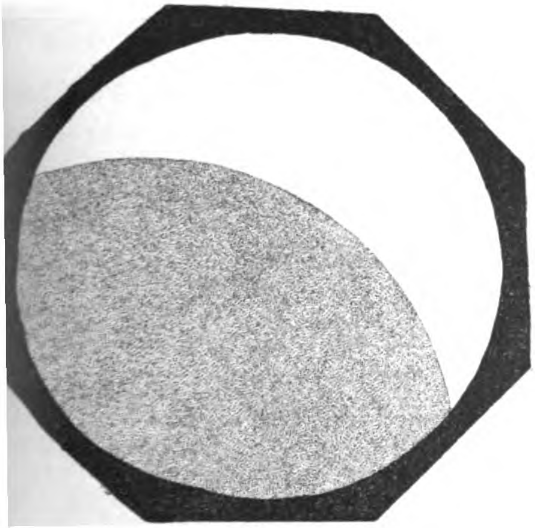


Fig. 4.

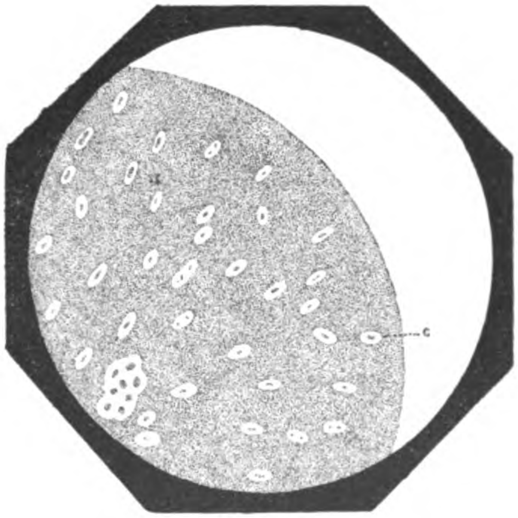


Fig. 5.

Fig. 4. Randgebiet einer jungen, mit Bacillus Oleae α verunreinigten Kolonie von Ascobacterium luteum. Vergr. 90/1.

Fig. 5. Randteil einer jungen, reinen Kolonie von Ascobacterium luteum. Vergr. 90/1. *c* Kapseln.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beispiele ähnlicher Vergesellschaftung von Ascobacterium luteum oder verwandten Formen mit pflanzenpathogenen [1]) Bakterien scheinen ziemlich häufig vorzukommen, was zu mancher Täuschung bei der Identitätsbestimmung von Krankheitserregern geführt haben mag. Peglion (2) isolierte aus Rotztuberkeln des Oleanders einen ähnlichen gelben Bacillus, der aber keineswegs der Erreger dieser Krankheit ist, wie ich mich auf Grund zahlreicher, erfolgloser Impfungsversuche überzeugen konnte; tatsächlich hat C. Smith neuerdings gezeigt, daß das Agens des Oleanderrotzes mit unserem Bacillus Oleae α identisch ist.

R. G. Smith (11) beschreibt einen Ascobacillus Sacchari (= Ascobacterium luteum) als konstanten Begleiter von Pseudomonas vascularum bei der Gummikrankheit des Zuckerrohres.

Es wird also künftighin vorteilhaft sein, sich diesem Ascobacterium gegenüber mißtrauisch zu verhalten, denn es kann bei der großen Diffusion und raschen Entwickelung die eigentlichen Parasiten im Wachstum überholen und ihre Gegenwart total maskieren.

Rom, 10. Juli 1907.

Benutzte Litteratur.

1) Berlese, A., Gravi alterazioni bacteriche dell' Olivo. (Riv. d. Patol. veg. Vol. I. Orig. 1905. No. 4. p. 58—59.)
2) Peglion, V., La rogna o tubercolosi del Nerium Oleander. (Rendic. Accad. Lincei. (5). Vol. XIV. II. Sem. 1905. p. 462—463.)
3) Petri, L., Ricerche sopra la bacteriosi del Fico. (Ebenda. Vol. XV. II. Sem. 1905. p. 644—651. Mit 2 Textfigg.)
4) Savastano, L., Tubercolosi, iperplasie e tumori nell' Olivo. I. und II. Memoria. Napoli 1887.
5) —, Il bacillo della tubercolosi dell' Olivo. (Rendic. Accad. Lincei (4). Vol. V. 1889. p. 92—94.)
6) Smith, C., A bacterial disease of the Oleander: Bacillus Oleae (Arc.) Trev. (Botan. Gazette. Vol. XLII. 1906. p. 301—310. Mit 4 Textfigg.)
7) Smith, Erwin F., Some observations on the biology of the olive-tubercle organism. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 198—200.)
8) Schiff-Giorgini, R., Bakteriologische Untersuchung über Bacillus Oleae (Arc.) Trev. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 217—218.)
9) —, Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit des Oelbaumes. (Ebenda. Bd. XV. 1905. p. 200—211.)
10) —, Ricerche su la tubercolosi dell' Olivo. (Memorie Accad. Lincei. Cl. Fis.-Mat.-Natur. (5). Vol. V. 1905. p. 186—209. Mit 2 Taf.)
11) Smith, R. G., The bacteriosis of the sugar-cane. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 805.)
12) Voglino, P., La rogna dell' olivo. Bacillus Oleae (Arc.) Trev. (Annali d. Accad. d. Agricultura. Torino 1892.)
13) —, Patologia vegetale. (Nuova Enciclopedia Agraria. Torino 1905. p. I, 45—47.)
14) Vuillemin, P., Association du Chaetophoma oleacina et du Bacillus Oleae. (Bull. Soc. mycol. d. France. T. XIII. 1897. p. 44—45.)

Nachdruck verboten.

On the cytology of Synchytrium.

By Dr. **S. Kusano,** Komaba (Tokio).

With 1 plate.

In 1899 Nawaschin [2]) published an interesting paper concerning the cytology of an intracellular parasite, Plasmodiophora Brassicae,

1) Sogar bei einigen Tierkrankheiten wird der Erreger von diesem Bakterium begleitet.

2) Nawaschin, S., Beobachtungen über den feineren Bau und Umwandlungen von Plasmodiophora Brassicae Woron. im Laufe ihres intracellularen Lebens. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 404.)

Digitized by Google | Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

where, with help of the modern microtechnics, he studied the cytological change of this microorganism throughout its development, together with its influence upon the host cell. Shortly afterwards Toumey[1]) studied in cytological as well as pathological respects a crown-gall which is caused, according to him, by an organism allied to Plasmodiophora, Dendrophagus globosus, and came, as regards the influence of this parasite upon the host cell, to essentially similar conclusions as Nawaschin. Concerning another intracellular parasite, Synchytrium[2]), which, as is well known, is the cause of a similar hypertrophical change, a cytopathological study seems not to have been adequately entered upon. Many cytological investigations which have hitherto been published about this fungus have dealt only with the cytological phenomena of the fungus body itself during its development: thus Harper[3]) touched upon the mode of spore-formation, while Dangeard[4]), Rosen[5]) and Stevens[6]) studied the division of the nucleus. In a recent study of Löwenthal[7]) on Chytridiaceae we find however a few facts concerning the pathological phenomena: among others he made brief mention of the influence of Syn. Anemones on the protoplast of the host cell.

In the present study attention has been devoted to the relation between the parasite and the host cell, and especially to the influence of the former on the function of the cytoplasm and nucleus of the host. An attempt has also been made in this work to compare the results here obtained with those obtained from the investigation[7]) of the intracellular parasites studied by Nawaschin and Toumey, and also of Synchytrium investigated by Löwenthal.

Among the species of Synchytrium found in Japan I have studied chiefly Syn. Puerariae Miyabe (diagnosis not yet published)[8]), on account of its very common occurence as well as its size. It causes swellings of tissue or galls on leaves and young stems of Pueraria Thunbergiana Benth. Compared with Syn. decipiens[9]), this fungus shows no organic divergence, but its body, nuclei, sori, sporangia and swarm-spores (Fig. 1) are all much larger. No resting spore is found in this fungus, but sporangia on the stem can pass the winter within the tissue of the host to produce swarm-spores in the next spring.

---

1) Toumey, T. W., An inquiry into the cause and nature of crown-gall. (The publications of the Univ. of Arizona Agricult. Experim. Station. Bulletin. Vol. XXXIII. 1900.)

2) De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien. Leipzig 1884.

3) Harper, R. A., Cell-division in sporangia and asci. (Ann. of Bot. Vol. XIII. 1899. p. 467.)

4) Dangeard, P. A., Recherches histologiques sur les Champignons. (Le Botaniste. Vol. II. 1900. p. 63.)

5) Rosen, F., Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenzellen. II. Studien über die Kerne und die Membranbildung bei Myxomyceten und Pilzen. (Cohn's Beitr. z. Biol. der Pflanzen. Bd. VI. 1893. p. 237.)

6) Stevens, F. L. and A. C., Mitosis of the primary nucleus in Synchytrium decipiens. (Bot. Gaz. Vol. XXXV. 1903. p. 405.)

7) Löwenthal, W., Tierversuche mit Plasmodiophora Brassicae und Synchytrium Taraxaci, nebst Beiträgen zur Kenntnis des letzteren. (Zeitschr. f. Krebsforschung. Bd. III. 1905). —, Weitere Untersuchungen an Chytridiaceen. (Archiv für Protistenkunde. Bd. V. 1905. p. 221.)

8) Sporangium-sorus globose or subglobose, attaining to 1—1,25 mm in diameter. Sporangium polygonal from compression, 19—34 μ in diameter, orange coloured, with hyaline wall. Swarm-spore ovoid, 6 × 10 μ, with orange-yellowish spots.

9) This fungus is also very common with us, occuring on Amphicarpaea Edgeworthii Benth. var. japonica Oliv.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

One of the peculiar characteristics of the fungus is this, that it never attacks the epidermal cells but infects always non-greenish parenchymatous cells belonging to another tissue system. So that infection takes place much more frequently in the subepidermal, parenchyma of the stems and petioles as well as or veins of the leaves than in the assimilatory cells.

The first question to be asked will be: how can the fungus attack the colourless cells lying deep under the epidermis, without affecting the latter itself or greenish cells? In many other Synchytrium swarm-spores infect directly the epidermis of the host by penetrating through its outer wall, but it is not so with Syn. Puerariae. Chemotactic experiments teach us that the swarm-spores are attracted by the parenchymatous cells without chlorophyll, while they are strongly repulsed by those with chlorophyll. So it will not be impossible to conclude that the swarm-spores enter at first intercellular space under the stomata and are attracted towards those cells which diffuse the attracting substances.

The materials for study were fixed chiefly by Flemming's solution or Keiser's acetic sublimate and examined after Flemming's triple staining or Heidenhain's iron-haematoxylin method.

Infected cell is at first filled with somewhat reticulated cytoplasm with a round body of the parasite within it, and the cytoplasm of the latter, being dense and homogeneous in consistency, can be sharply distinguished from that of the former (Fig. 3).

As in Syn. decipiens[1]) the nucleus of the parasite is comparatively large and contains, besides a large spherical nucleolus, a few chromatic globules and a small quantity of achromatic substance, We find generally a clear space round the nucleolus even at the first period of vegetation (Figs. 4—6 *np*).

The parasite, growing more rapidly than the host cell itself, soon comes to occupy a large space within it (Fig. 4). Stevens observed in a similar case an enormous growth of the host cell and mentioned that the host cell of Syn. decipiens attains a diameter of 100 μ or more, while the healthy cell measures on the average less than 15 μ[2]). In our case such a remarkable growth of the host cell does not actually take place, for, at most, it can grow only to double its original diameter, while not uncommonly the parasite attains to a diameter of 1—1,25 mm, that is nearly thirty times or more that of the normal cell of the host. Such an extraordinary growth of the parasite can be made possible only by an absorption of the wall not only of the host cell itself, but also of cells surrounding the former. This absorption begins soon after or even before the cytoplasm of the parasite has filled up the host cell (Fig. 4). It takes place rapidly and vigorously, and no sooner has the wall of the host cell been dissolved than adjacent cells are attacked, for the wall of the latter begins to become thinner and to stain faintly, and finally it disappears entirely (Figs. 5—7).

The dissolving power is greatly weakened or quite lost soon after, in spite of the vigorous growth of the parasite still going on. Consequently the space thus cleared out becomes later too narrow for the development of the parasite. For its full growth the parasite wants now much more space, but since the absorption of the wall has already finished it necessarily presses on the surrounding unattacked cells (Fig. 7).

1) Stevens, loc. cit.
2) Stevens, loc. cit. p. 408.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so that, at the end of its development, many layers of cells round the parasite are so much compressed that their respective lumina become hardly visible. Even a careful examination of such a stage does not make it evident that an absorption of cells has actually taken place (see Fig. 7). This might lead us at once to the misapprehension that the space which is occupied by the parasite was derived from a single cell.

The contents of cells affected, remaining intact and quite healthy, come to fuse together to form a multinuclear protoplast (Fig. 6 *sp*) encasing the parasite, which may be appropriately called „symplast“ according to Hanstein[1]). As it is highly probable that Synchytrium, like Plasmodiophora and Dendrophagus, feeds on the protoplast of the host, the formation of the symplast would be favourable for the parasite attaining such an extraordinary growth that it would be scarcely possible to be encased in the small mass of the protoplast of a single host cell.

It is very interesting to note that the parasite, growing at first within the intracellular space, comes afterwards to develop within a lysigenic intercellular space (Figs. 6—7 *ls*). Towards the parasite, however, this lysigenic space stands in the relation of an enlarged cell-lumen, where the symplast performs the normal function of an individual protoplast[2]).

Further enlargement of the parasite, however, reduces the symplast to a very thin layer over the cytoplasm of the parasite, which interfers with its normal function: neither the formation of starch grains takes place nor do the nuclei show a differentiation in their contents, being simply deeply stained by the colouring matter (Fig. 7 *sp*). Simultaneous with this change, the growth of the parasite diminishes and a hyaline membrane appears round its body. The physiological connection between the host and parasite being thus prevented, the vegetative period of the parasite seems now to come to an end.

Now follows the reproductive period, which begins with a repeated nuclear division. The whole mass of the body changes into a sporangium-sorus and remains within the host body for a while. When the sporangia come to maturity the hypertrophied and exceedingly compressed tissue round the parasite absorbs much water and swells up, whereby sporangia are pushed out to be set free through fissures of the tissue overlying them (Figs. 7—8).

The fate of the protoplast of the host cell is somewhat different from that infected by Plasmodiophora and Dendrophagus. According to Nawaschin[3]) and Toumey[4]) the living protoplast of the host is consumed during plasmodial or feeding stage of the parasite. With Syn. Puerariae, however, the cytoplasm as well as the nuclei of the host remain healthy, as has been stated above, round the parasite, even in the reproductive period (Fig. 7), and their disappearance at the later stage would most probably be due not to the action of the parasite but to self-disorganization[5]).

1) Hanstein, T. v., Das Protoplasma. 1880. p. 177.

2) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. I. 1897. p. 51. In the symplast an accumulation of starch grains may be observed as was found by Nawaschin (loc. cit. p. 420) in an infected cytoplasm.

3) loc. cit. p. 421.

4) loc. cit. p. 50.

5) Stevens (loc. cit. p. 408) seems to have considered that both the cytoplasm and nucleus of the host cell of Syn. decipiens disappear even during the vegetative period of the latter.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In the host cell as well as the adjacent cells a slight increase of cytoplasm can be recognized. Frequently we observe an enlargement and deformation of nuclei of these cells, not however so remarkable as in the case of Plasmodiophora or Syn. Anemones. Such disintegration of the nucleus as observed by Löwenthal[1]) on the host cell of Syn. Anemones is not ascertained in our Synchytrium.

As the most striking change Stevens[2]) mentioned the enormous enlargement of the nucleus accompanying the increase of the chromatin globules during the vegetative period of Syn. decipiens, and its marked shrinkage before the beginning of the reproductive period. A quite similar change was observed in Syn. Puerariae during the same period. Such a remarkable case has not yet been recorded in any other Synchytrium parasitic on the single cell of the host[3]), but we find a certain resemblance in some nuclei of special activity, as in antipodal cells of some angiosperms[4]), mycorrhizal[5]) or some secreting cells[6]). In our case the secretion of certain enzyme (probably cytase) in dissolving the cell wall of the host being very probable, a further study of such change in the nucleus is very desirable.

What I have stated above concerning the action of Syn. Puerariae upon the host seems also to be applicable to Syn. decipiens: namely the latter infects only non-greenish cells except epidermis, dissolves the cell wall of the host and forms lysigenic intercellular space, where it performs its development encased by the symplast of the host. Moreover, during the vegetative period of the parasite, a consumption of the protoplast of the host does not take place, so far as my observation goes. On the whole, we see that the behaviour of these two parasites towards their respective hosts is quite similar and remarkably characteristic, and it would be no less interesting to compare their pathological action with that of other Synchytria which are parasitic on a single cell.

As regards the cytological change occuring in the fungus body I can in certain respects confirm the results obtained by Harper and Stevens in other Synchytria. Its details, however, will deserve special treatment.

Explanation of figures.

All figures except 1, 2 and 8 are from fixed material and magnified 400 times.

p parasite, *cp* cytoplasm of the parasite, *np* nucleus of the parasite, *nh* nucleus of the host, *sp* symplast of the host, *ls* lysigenic intercellular space, *s* sporangium of the parasite, *w* wall of the sporangium-sorus, *b* cell bordering on the lysigenic intercellular space.

Fig. 1. Swarm-spores of the parasite. The white spot denotes the nucleus and the black spot, the yellowish oil drop. $\times$ 600.

Fig. 2. Swarm-spore at rest. $\times$ 600.

Fig. 3. Parasite in the cytoplasm of a host cell at an early stage of development. Cytoplasm of the host cell contains starch granules.

---

1) Löwenthal, loc. cit. (Archiv f. Protistenkunde. p. 224).

2) loc. cit. p. 408 and 410.

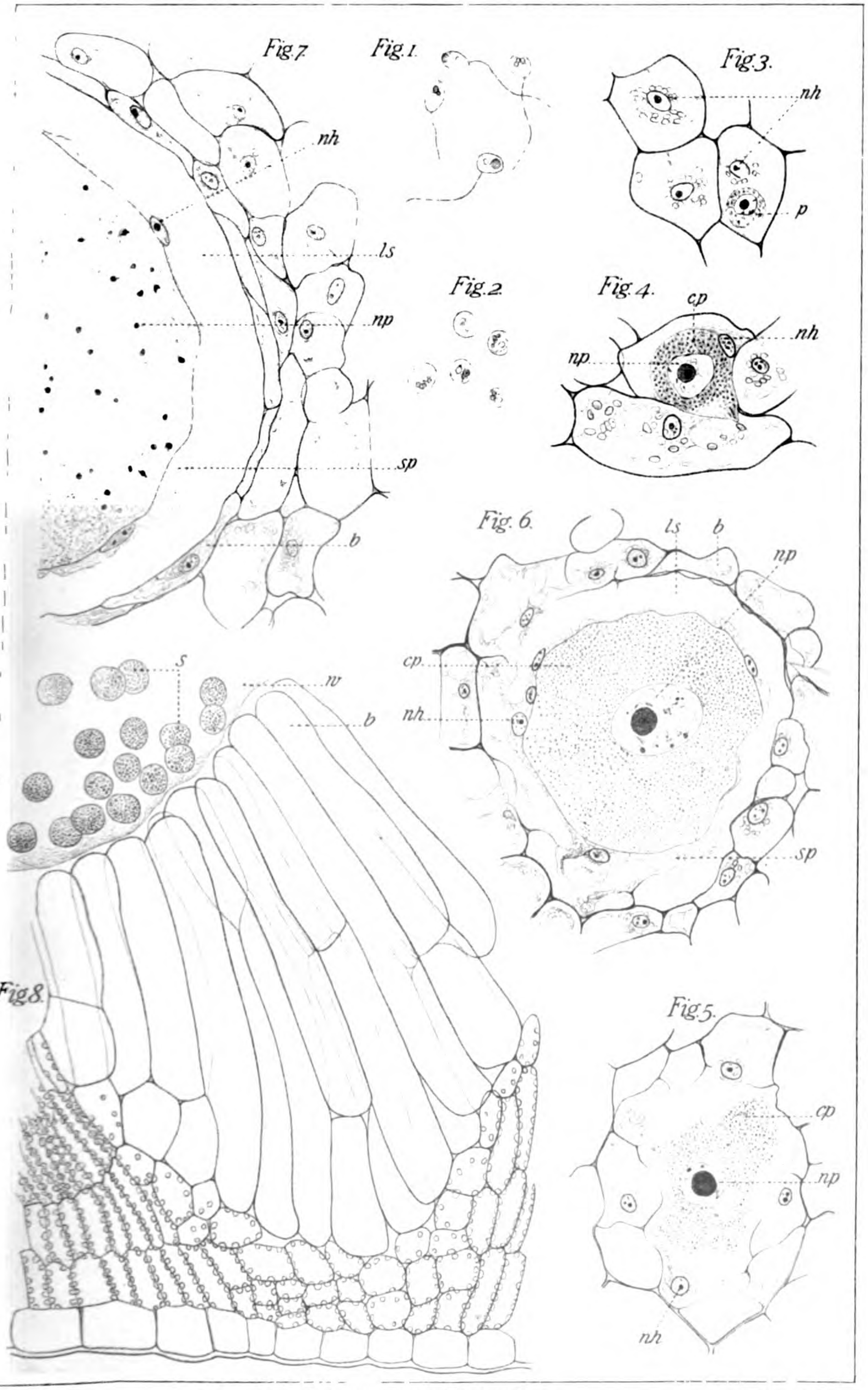
3) Dangeard, loc. cit.; Löwenthal, loc. cit.

4) Ikeda, T., Studies in the physiological functions of antipodals and related phenomena of fertilization in Liliaceae. (The Bull. of the College of Agricult., Tokio, Imp. Univ. Vol. V. 1902.). — Huss, H. A., Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Antipoden. (Beihefte zum Bot. Centralbl. Abt. I. Bd XX. 1906. p. 77.)

5) Magnus, W., Studien an der endotrophen Mycorrhiza von Neottia Nidus avis. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXV. 1900. p. 205.). — Shibata, K., Cytologische Studien über die endotrophen Mykorrhizen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXVII. 1902. p. 643.)

6) Rosenberg, O., Physiologisch-cytologische Untersuchungen über Drosera rotundifolia. Upsala 1899.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Kusano del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith, Jena.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Fig. 4. Little advanced stage. Parasite begins to invade an adjacent cell by dissolving its wall.

Fig. 5. Parasite, occupying the whole space of the host cell, is now concerned in dissolving the wall of the surrounding cells.

Fig. 6. Advanced stage of the parasite grown in the lysigenic intercellular space and enveloped by the symplast.

Fig. 8. Eruption of a sporangium-sorus formed on a leaf. Compressed cells round the sorus have been grown up into papillae. $\times$ 170.

Fig. 7. Parasite at the beginning of the reproductive period. Symplast still alive and cells bordering on the lysigenic space somewhat compressed. The space left between the parasite and the cells of the host is caused by the shrinkage of the parasite during fixation.

Nachdruck verboten.

Versuche mit Kompositen-bewohnenden Puccinien.

(Vorläufige Mitteilung.)

[Aus dem botanischen Institut Bern.]

Von **René Probst,** Bern.

Nach den Angaben von P. und H. Sydow in ihrer Monographie der Uredineen[1]) lebt die Puccinia Hieracii auf etwa 46 verschiedenen Hieracium-Arten. Die Untersuchungen von E. Jacky[2]) ließen nun eine weitgehende Spezialisation innerhalb dieser Art erwarten. Meine, auf Anregung von Herrn Prof. Ed. Fischer ausgeführten Infektionsversuche haben diese Vermutung bestätigt. Zugleich dehnte ich meine Untersuchungen noch auf eine Anzahl weiterer, der Aufklärung bedürftiger Kompositen-bewohnender Puccinien aus.

1. Puccinia Hieracii (Schum.) Mart.

Innerhalb dieser Art würden vorläufig als spezialisierte Formen zu unterscheiden sein:

a) Puccinia Hieracii murorum.

Diese Form hat als Wirt allerdings nicht nur H. murorum, sondern noch eine Anzahl andere Euhieracien. Sie geht aber nicht über auf Arten der Untergattung Pilosella Tausch.

b) Puccinia Hieracii Pilosellae.

Diese Form scheint ganz auf Hieracium Pilosella spezialisiert zu sein.

c) Puccinia Hieracii Auriculae.

Als Nährpflanzen ergaben meine Versuche Hieracium Auricula und Hieracium Peleterianum.

d) Puccinia Hieracii praealti.

Auch diese Form lebt nur auf den allernächsten Verwandten von Hieracium praealtum. (?)

2. Puccinia Leontodontis Jacky[3]).

Mein Infektionsmaterial stammte von Leontodon hispidus. In jeder Versuchsreihe konnte nur wiederum auf Leontodon hispidus ein positiver Erfolg erzielt werden. Gesund blieben die anderen Leontodon-Arten, ferner Hieracien und Hypochoeris.

1) Sydow, P. u. H., Monographia Uredinearum. Vol. I. p. 96.

2) Jacky, E., Kompositen-bewohnende Puccinien. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. p. 377.)

3) Jacky, E., l. c. p. 339.

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY

Die Selbständigkeit dieser Species wäre demnach erwiesen. Möglicherweise läßt sich zudem von ihr als spezialisierte Form abtrennen Puccinia Leontodontis f. sp. hispidi.

3. Puccinia Hypochoeridis Oud.

a) Nach E. Jacky[1]) dürfte diese Art von Puccinia Hieracii abzutrennen sein. Auch P. und H. Sydow betrachten sie als selbständige Species[2]). Infektionsversuche sind aber noch keine ausgeführt worden. Ich hatte nun infizierte Hypochoeris radicata, die ich zu einem Versuch verwandte. Das Resultat desselben war, daß nur wieder Hypochoeris radicata, nicht aber Hieracien und Leontodon-Arten infiziert wurden.

b) Bubák[3]) trennte die auf Hypochoeris uniflora lebende Uredinee auf Grund morphologischer Verschiedenheiten von Puccinia Hypochoeridis ab und nannte sie Puccinia montivaga Bubák n. sp. Für die Berechtigung dieser Abtrennung spricht zugleich ein Versuch von E. Jacky[4]) mit Sporenmaterial, stammend von Hypochoeris radicata. In dieser Versuchsreihe blieb nämlich Hypochoeris uniflora pilzfrei. Ich infizierte nun umgekehrt verschiedene Hypochoeris-Arten mit Teleutosporen dieser Puccinia montivaga Bubák n. sp. Ein positiver Erfolg zeigte sich nur auf Hypochoeris uniflora, und damit wäre die Selbständigkeit der Puccinia montivaga Bubák n. sp. erwiesen.

4. Puccinia Carduorum Jacky.

Als Nährpflanzen dieses Pilzes gibt Sydow[5]) folgende Carduus-Arten an: Carduus acanthoides, crispus, defloratus, nutans, Personata. Infektionsversuche, die ich auf Veranlassung von Herrn Dr. Jacky mit Uredo-Material ausführte, das einerseits von Carduus crispus, andererseits von Carduus defloratus stammte, ergaben, daß die auf Carduus defloratus lebende Puccinia nicht identisch ist mit derjenigen auf Carduus crispus, wie Jacky bereits vermutet hatte[6]). Sie wäre also abzutrennen als Puccinia Carduorum f. sp. deflorati.

Bern, im August 1907.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Euphorbia-bewohnenden Melampsoren.

Von **Wilhelm Müller,** Bern.

Mit 31 Figuren.

(Schluß.)

Biologische Arten und die Beziehungen der Nährpflanzen zueinander.

Eine wichtige und interessante Frage ist die nach der Auswahl der Nährpflanzen, welche die biologischen Arten unseres Pilzes treffen. Wir fanden, daß die biologische Differenzierung der Euph.-Melampsoren eine

1) Jacky, E., l. c. p. 339.
2) Sydow, P. u. H., Monographia Ured. Vol. I. p. 100.
3) Bubák, Beitrag z. Kenntnis einiger Urdineen. (Annales Mycologici. Bd. III. 1905. p. 222.)
4) Jacky, E., Beitrag z. Kenntnis d. Rostpilze II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. 1907. p. 82.)
5) Sydow, l. c. p. 33.
6) Jacky, E., Kompositen-bewohnende Puccinien etc. p. 289.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr starke ist, denn bis jetzt konnten mit relativ wenig Versuchsmaterial 8 biologisch verschiedene Arten unterschieden werden (inklusive Mel. Euphorbiae dulcis Otth). Von diesen besitzen, soweit bekannt, 5 nur 1 Wirtspflanze und 3 deren 2. Die plurivoren Formen seien hier mit Angabe ihrer systematischen Stellung[1]) und Vegetationsdauer angeführt:

Mel. Euphorbiae Gerardianae auf	E. Gerardiana	♃	Esulae: Semina laevia
	E. falcata	⊙	Esulae: S. transverse succulta
Mel. Euphorbiae stricta auf	E. stricta	⊙	Galarrhoei
	E. platyphyllos	⊙	
Mel. Euphorbiae dulcis auf	E. dulcis	♃	Galarrhoei
	E. Lathyris	⊙	Decussatae

Wenn wir die Beziehungen der Nährpflanzen ein und derselben biologischen Art näher ins Auge fassen, so werden wir finden, daß sich über die Auswahl, welche der Pilz trifft, kein bestimmtes Gesetz aufstellen läßt. In einem Fall stehen sich die Wirtspflanzen systematisch mehr oder weniger nahe, im anderen sind sie morphologisch bedeutend verschieden. Ersteres trifft zu für die Mel. Euphorbiae strictae, letzteres für die Wirte der Mel. Euphorbiae dulcis, die zwei einander ganz fernstehenden Subsektionen angehören.

Andererseits mache ich darauf aufmerksam, daß systematisch nahe verwandte Pflanzen, wie z. B. E. Cyparissias und E. Geradiana, ferner E. dulcis und stricta die Wirte von biologisch verschiedenen Arten des Pilzes sind.

Man wird auch geneigt sein, zu vermuten, die Melampsora spezialisiere sich auf Pflanzen, die in ihrer Entwickelungsdauer gleichwertig sind. Aber auch das trifft nicht zu, denn es gibt Fälle, wo der gleiche Parasit neben einjährigen auch ausdauernde Euphorbien befällt. Ich zitiere als Beispiel die Mel. Euphorbiae Gerardianae, welche außer der perennierenden E. Gerardiana noch die einjährige E. falcata bewohnt. Aehnliche Verhältnisse finden wir ferner bei der Mel. Euphorbiae dulcis; die eine ihrer Nährpflanzen ist ausdauernd, die andere einjährig.

II. Morphologische Verhältnisse.

Bis jetzt sind unter den Euphorbien-bewohnenden Melampsoren, wie wir bereits eingangs dargetan haben, 3 Formen unterschieden worden, welche infolge der morphologischen Verschiedenheiten in den Teleutosporen 3 selbständige Arten repräsentieren: Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter, Mel. Euphorbiae dulcis Otth und Mel. Gelmi Bres.

Durch die gütige Vermittelung von Herrn Prof. Ed. Fischer erhielt ich einerseits durch Herrn P. Hennings aus dem Kgl. bot. Museum Dahlem bei Berlin, ferner von den Herren Prof. P. Sydow und Prof. Magnus in Berlin und Dr. Dietel in Leipzig reichhaltiges und gutes Herbarmaterial von Euphorbia-Melampsoren. Die mikroskopische Untersuchung desselben ergab einige wichtige und interessante Gesichtspunkte. Mit der Anordnung des Materials gehe ich so vor, daß ich die einzelnen Formen nach der Länge ihrer Teleutosporen geordnet der Reihe nach charakterisiere und der Uebersicht und des Zusammenhangs halber auch die schon beschriebenen Formen einfüge, um dann nachher die Resultate weiter zu verwerten.

1) Ich halte mich an das System von Boissier in de Candolle, Prodr. XV. 2.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Melampsora auf Euph. terracina L.

Material: Von Limosina (Mittelitalien), September 1889, leg. R. Solla [Herb. des bot. Mus. Berlin]. Uredo-Lager rundlich, bis 1 mm Durchmesser, auf der Blattunterseite zerstreut, mit zahlreichen kopfigen Paraphysen. Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig, Länge 15—25 μ, Durchmesser 15—23,7 μ. Membran farblos mit feinen, locker gestellten Stacheln.

Teleutosporenlager: länglich bis rund, von gleicher Größe wie die Uredo-Lager, subepidermal. Meist auf der Blattunterseite als tiefbraune bis schwarze Flecken, mitunter als Kreisring ein großes Uredo-Lager umschließend. Teleutosporen einzellig, langgestreckt prismatisch, sehr schlank (Länge 60—87 μ, Durchmesser 7,5—10 μ), Membran braun, an Scheitel und Fuß schwach verdickt (bis 5 μ).

Verbreitung der Nährpflanze[1]): An Wegen, auf Kulturland und an sandigen Küsten des Mittelmeergebietes.

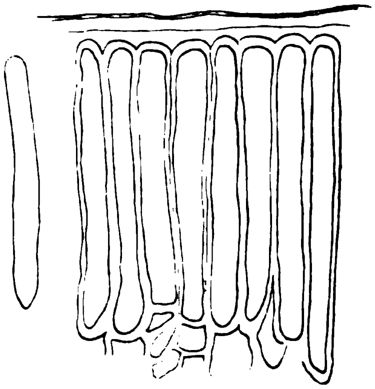


Fig. 1.

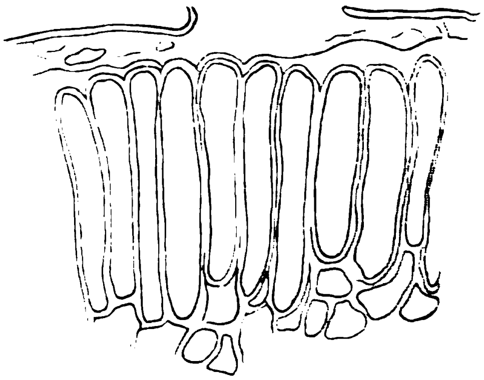


Fig. 2.

Fig. 1. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euphorbia terracina von Limosina.

Fig. 2. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. hebecarpa aus der Prov. Kerman (Persien).

2. Melampsora auf Euph. hebecarpa Boiss.

Material: Aus der Provinz Kerman (Pers. austr.), Juli 1892, leg. Bornmüller [Herb. des bot. Mus. Berlin].

Uredo-Lager soviel ersichtlich in breiter blaßgelber Schicht über beide Seiten des Blattes ausgebreitet, die wahrscheinlich durch Ineinanderfließen von länglichen Pusteln entstand, doch auch einzeln, rundlich. Paraphysen vorhanden. — Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig. Länge 17,5—22,5 μ, Durchmesser 15—17,5 μ. Membran farblos mit sehr dicht gestellten, feinen Stacheln.

Teleutosporenlager subepidermal, vielfach als indischrot-brauner, fettig glänzender Ueberzug die Blattspreite ganz oder teilweise scheidenartig überziehend oder als kleine, mehr oder weniger locker stehende runde Flecken. — Teleutosporen einzellig, langgestreckt, prismatisch, 60—80 μ lang, 7,5—11 μ im Durchmesser, bräunlich, am Scheitel nicht verdickt. Verbreitung der Nährpflanze: In feuchten Berggegenden Südpersiens.

3. Melampsora auf Euph. dendroides L.

Material: Von Miramar (Mallorca), 22. April 1905, leg. Brockmann

1) Diese Angaben sind entnommen aus de Candolle, Prodromus XV. 2.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

[Herb. des bot. Inst. Bern] und von Cagliari (Sardinien) leg. Marcusen [Herb. des bot. Mus. Berlin].

Es ist dies die Mel. Gelmi Bres. Die Charakteristik von Bresadola lautet folgendermaßen:

„Hypophylla; acervulis uredosporiferis in greges circulares dispositis, raro solitariis; uredosporis subglobosis vel rarius ellipticis, laxe et subdiliter aculeatis, membrana crassa hyalina, contentu stramineo, 21—24 // 16—21 μ; paraphysibus clavatis, apice 16—18 μ latis, acervulis teleutosporiferis rotundatis, interdum confluentibus, generatim orbiculariter dispositis, badio nigris.

Teleutosporis unicellaribus, subcylindraceis, basi tenuiter attenuatis apice truncatis, luteo fulvellis, 50—80 // 9—12 μ, basi pediculo septato, saepe duobus teleutosporis communi, 15—16 // 6—7 μ praeditis.

Verbreitung der Nährpflanze: An wärmeren, felsigen Küstengegenden des Mittelmeergebietes.

Meine Beobachtungen und Messungen stimmen genau mit denen Bresadolas überein.

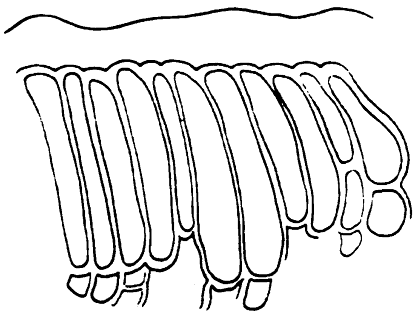


Fig. 3.

Fig. 3a.

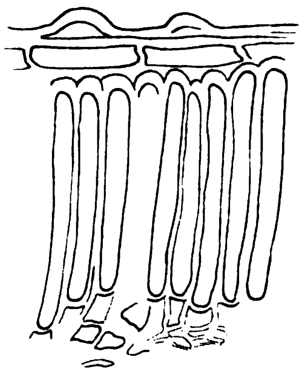


Fig. 4.

Fig. 3 u. 3a. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. dendroides, von Miramare.

Fig. 4. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. Characias von Catania.

4. Melampsora auf Characias L.

Material: Von Catania (Sicilien), April 1894, leg. ? [Herb. Sydow].

Uredo-Lager rundlich, selten 1 mm im Durchmesser. Oft in kreisförmigen Gruppen beisammen stehend, jedoch ohne ein zentrales Lager zu umschließen; blattunterseits; mit Paraphysen. — Uredosporen kugelig bis ellipsoidisch (Länge 20—23 μ, Durchmesser 17,5—20 μ). Membran farblos, locker stachelig.

Teleutosporenlager subepidermal, auf der Unterseite der Blätter, dunkelbraun bis schwarz, meist als kleine getrennte Punkte rings um ein Uredo-Lager entstehend, bei weiterem Wachstum zu einem mehr oder weniger breiten Ring zusammenfließend, in dessen Mitte die entleerte Uredopustel sich vorfindet. — Teleutosporen prismatisch, schlank, fast überall von gleichem Durchmesser; Länge 50—65 μ, Durchmesser 7,5—10 μ, Membran gelbbraun, am Scheitel verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: An Zäunen und mit Gestrüpp bewachsenen Gegenden des Mittelmeergebietes.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5. Melampsora auf Euph. graeca Boiss. et Sprun.

Material: Aus dem Bassangebirge bei Pirof (Serbien), leg. Ranojević (Pilze Serbiens) [Herb. Sydow] und anderes Material aus gleicher Quelle aus dem Herb. des bot. Mus. Berlin.

Uredo-Lager klein, rundlich, blaßgelb, beidseitig; mit Paraphysen. Uredosporen kugelig bis ellipsoidisch, 16—20 μ lang, 15—17,5 μ breit. Membran farblos, mit locker gestellten Stacheln besetzt.

Teleutosporenlager subepidermal, auf beiden Blattseiten, als ganz kleine, dunkelbraune bis schwarze Einzelflecken, welche bisweilen zusammenfließen; vielfach am Stengel auftretend, den sie in zusammenhängender oder unterbrochener Schicht umgreifen. — Teleutosporen einzellig, prismatisch, gegen den Scheitel sich etwas erweiternd. Länge 42—67 μ, Durchmesser 7,5—12,5 μ. Membran bräunlich, am Scheitel sichtbar verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: In den Bergen Dalmatiens, Griechenlands, Kleinasiens.

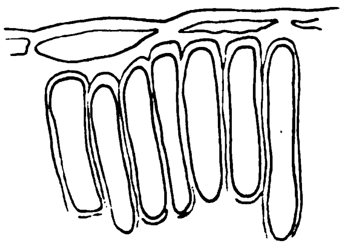


Fig. 5.

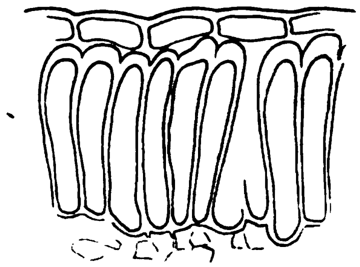


Fig. 6.

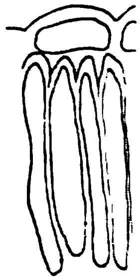


Fig. 6a.

Fig. 5. Teleutosporenlager der Mel. graeca, von Pirof.
Fig. 6 u. 6a. Teleutosporenlager der Mel. Euphorbiae Gerardianae, von Useigne.

6. Melampsora auf Euph. Gerardiana Jcq.

[Mel. Euphorbiae Gerardianae.]

Material: Zwischen Useigne und Vex (Val d'Hérence: Wallis) am 15. Aug. 1905 ges. von Ed. Fischer. [Herb. des bot. Inst. Bern.]

Uredo-Lager oft zusammenfließend oder ringförmig um ein zentrales Lager gruppiert oder einzeln; meist blattunterseits, auch am Stengel. Durchmesser ca. 1 mm. Paraphysen vorhanden. Uredosporen ellipsoidisch oder kugelig, 17,5—22 μ lang, 14—18,7 μ breit. Membran farblos, dicht stachelig.

Teleutosporenlager blattober- und unterseits, subepidermal als rundliche, braune Flecken von ca. 1 mm Durchmesser. Teleutosporen einzellig, prismatisch, dichtgedrängt; Länge 45—62 μ, Durchmesser 7,5 bis 12,5 μ. Membran gelb, außen braun, am Scheitel ausgezogen und ziemlich stark verdickt. [Es stand mir nur spärliches Material zur Verfügung.]

Verbreitung der Nährpflanze: Mittel- und Südeuropa, Kaukasien, Persien.

7. Melampsora auf Euph. falcata L.

[Nach unseren Versuchen identisch mit Mel. Euph. Gerardianae.]

Material: Von Istrien (Abstieg vom Monte Maggiore nach Abbazzia).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

12. Juni 1902 leg. P. Sydow [Herb. Sydow] und von Rovigno „Punta Croce“, 8. Juni 1902, leg. P. Sydow [Herb. Sydow].

Uredo-Lager klein, rund, im Maximum 0,5 mm Durchmesser, einzeln oder in Gruppen auf der Ober- und Unterseite des Blattes; mit blaßgelblichem Hof. Sie treten auch am Stengel auf und verursachen dort längliche, rotbraune Schwielen. Paraphysen vorhanden. — Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig, 15—21 μ lang, 14—18 μ im Durchmesser. Membran farblos mit dichtstehenden Stacheln.

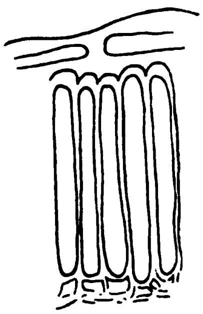


Fig. 7.

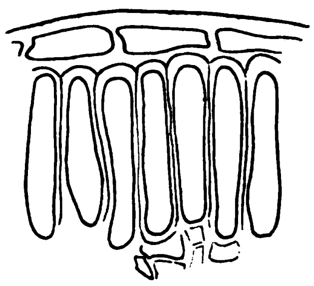


Fig. 8.

Fig. 7. Teleutosporenlager der Mel. Euphorbiae Gerardianae auf Euph. falcata, von Istrien.

Fig. 8. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. macrocarpa, von Egin.

Teleutosporenlager als kleine schwärzliche Punkte an absterbenden Blättchen beidseitig, subepidermal, wie auch am Stengel, wo sie tiefbraune, mehr als 0,5 cm lange Flecken bilden. Teleutosporen einzellig, prismatisch, sehr dicht stehend; Länge 40—62,5 μ, Durchmesser 7,5—12 μ. Membran am Scheitel deutlich verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: Mittel- und Südeuropa, Syrien, Persien etc.

8. Melampsora auf Euph. macrocarpa Boiss. et Buhs.

Material: von Egin (Armenia turcica), leg. P. Sintenis [Herb. Sydow].

Uredo-Lager rund, oft in kreisförmigen Gruppen bis zu 3 mm Durchmesser vereinigt oder in einzähliger Reihe links und rechts der Blattmittelrippe folgend, meist aber unregelmäßig verteilt; blattunterseits. Mit Paraphysen. — Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig, Länge 17,5 bis 22,5 μ, Durchmesser 16—20 μ. Membran farblos, ca. 2 μ dick, mit locker stehenden Stacheln.

Teleutosporenlager beidseitig, subepidermal, dunkelbraun bis schwarz, in kleinen, rundlichen Flecken, welche bei starker Infektion der Pflanze zu einer großen, oft die ganze obere Spreite überziehenden, wenig vorgewölbten Schicht sich vereinigen. Ränder der Lager schokoladebraun, Mitte derselben fast schwarz. — Teleutosporen einzellig, prismatisch, 42—62,5 μ lang, 7,5—10 μ breit, am Scheitel ein wenig verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: In Persien und Armenien.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

9. Melampsora auf Euph. oxyodonta Boiss. et Haussk.

Material: Von Aleppo (Aintab), Mai 1865, leg. Haussknecht [Herb. Sydow].

Uredo-Lager: Entleert und rückgebildet.

Teleutosporenlager subepidermal, dunkel rotbraun, meist krustenartig zusammenfließend, stark vorgewölbt; blattoberseits, sporadisch auch unterseits.

Teleutosporen prismatisch, einzellig, an Basis und Scheitel oft gerundet, Länge 37,5—62 μ, Breite 7,5—10 μ. Membran gelbbraun, am Scheitel stark verdickt (5—7 μ).

Verbreitung der Nährpflanze: Bei Aleppo.

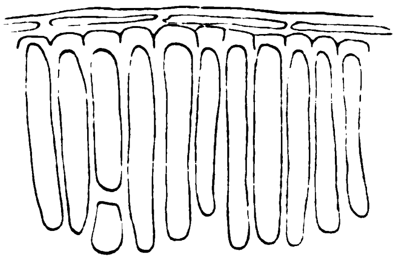


Fig. 9.

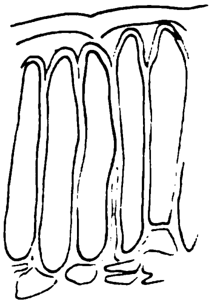


Fig. 10.

Fig. 9. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. oxyodonta, von Aleppo.

Fig. 10. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. orientalis, von Armenien.

10. Melampsora auf Euph. orientalis L.

Material: Von Kischadasa, Prov. Nakitschiwan (Armenien), leg. Szowitz [Herb. Sydow].

Uredo-Lager als rundliche Polster von bis 2 mm Durchmesser, welche vielfach das Blatt quer durchsetzen und auf beiden Seiten Sporen bilden, oder als kleine Pünktchen ringförmig um ein zentrales Lager gruppiert (blattunterseits). — Uredosporen klein, kugelig bis ellipsoidisch, pünnwandig, Länge 16—18 μ, Durchmesser 15—17 μ. Membran farblos, mit locker gestellten Stacheln.

Teleutosporenlager auf beiden Blattseiten als kleine, kaffeebraune Punkte, die oft zu großen, unregelmäßig geformten Fleckchen verschmelzen, die schwach vorgewölbt sind; subepidermal. — Teleutosporen prismatisch, an Basis und Scheitel zugespitzt. Länge 55—62 μ, Durchmesser 7,5—10 μ. Membran nirgends stärker verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: In Armenien bei Nakitschiwan, im nördlichen Persien (am Elbrus) etc.

11. Melampsora auf Euph. pterococca Brot.

Material: Von Piscina, 11. Juni 1863, leg. ? [Herb. Sydow].

Uredo-Lager: Keine mehr vorhanden.

Teleutosporenlager beidseitig, subepidermal, hauptsächlich aber auf der Blattunterseite als dunkelbraune bis schwarze Flecken, die vielfach zu Krusten mit welliger Oberfläche zusammenfließen.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Teleutosporen einzellig, prismatisch, mehr oder weniger schlank, 37,5—55 μ lang, 6—10 μ breit. Membran braun, am Scheitel wenig oder nicht verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: Portugal, Süd-Spanien, Korsika und Sardinien, Sicilien, Nord-Afrika, Teneriffa.

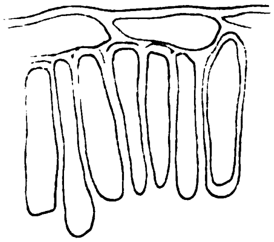


Fig. 11.

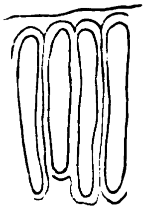


Fig. 11a.

Fig. 11 u. 11a. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. pterococca von Piscina.

12. Melampsora auf Euph. Schimperiana Hochst.

Material: von Abessinien, 1842, leg. Schimper [Herb. Sydow].

Uredo-Lager rund, meist weniger als 0,5 mm im Durchmesser, unregelmäßig angeordnet oder kreisförmig um ein zentrales Lager, immer auf der Unterseite der Blätter; mit Paraphysen. — Uredosporen meist ellipsoidisch, 16,7—22,5 × 14,7—17,5 μ. Membran farblos, bis 2 μ dick, mit ziemlich dicht stehenden Stacheln.

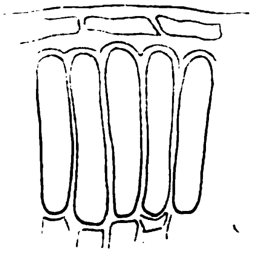


Fig. 12.

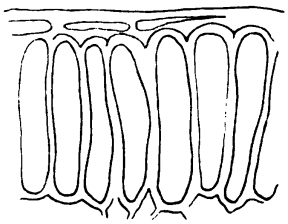


Fig. 13.

Fig. 12. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. Schimperiana, von Abessinien.

Fig. 13. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. peploides, von Troja.

Teleutosporenlager rundlich bis länglich, einzeln, kastanienbraun, wenig vorgewölbt; unter der Epidermis. — Teleutosporen einzellig, prismatisch, ziemlich gleichmäßig gestaltet. Länge 45—50 μ, Durchmesser 7,5—10 μ. Membran auf der Außenseite nicht verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: Abessinien und Arabien.

13. Melampsora auf Euph. peploides Gouan.

Material: Von Troja, Thymbra in valle Scamandri, 19. April 1883, leg. P. Sintenis [Herb. Sydow].

Uredo-Lager blattunterseits, rund, unregelmäßig verteilt; mit Paraphysen. — Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig, 17,5—20 μ lang, 15—17,5 μ im Durchmesser. Membran farblos, locker stachelig.

Teleutosporenlager subepidermal, ebenfalls auf der Unterseite

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Blätter als kleine, schwarze Punkte, von denen sich oft mehrere vereinigen; auch am Stengel auftretend. Nur schwach vorgewölbt. — Teleutosporen einzellig, prismatisch, in Form und Größe ziemlich schwankend; 35—50 μ lang, 7,5—12 μ im Durchmesser. Membran am Scheitel nicht oder bloß ganz schwach verdickt, bräunlich.

Verbreitung der Nährpflanze: In schattigen und kultivierten Gegenden des Mittelmeergebietes.

14. Melampsora auf Euph. helioscopia L.

[Mel. Helioscopiae s. str.]

Material: Von Twann (Bern) am 11. Okt. 1905 von mir gesammelt und anderes aus dem Herb. des bot. Inst. Bern.

Ihre Charakteristik lautet nach Fischer[1]):

„Uredo-Lager rundlich oder länglich, früh nackt, mit zahlreichen kopfigen Paraphysen untermischt. Uredosporen kugelig bis kurz ellipsoidisch; Länge 18—21 μ, Durchmesser 14—18 μ; Membran farblos, mit locker stehenden Stacheln besetzt. Paraphysen im kopfig angeschwollenen Teil 18—21 μ im Durchmesser, daselbst mit stark verdickter Membran.

Teleutosporenlager auf beiden Blattseiten, subepidermal, klein, rundlich oder länglich, rotbraun, zuletzt schwarz, mehr oder weniger vorgewölbt, oft verlängert und zusammenfließend. — Teleutosporen prismatisch. Länge 50—60 μ, Durchmesser bis 14 μ [nach meinen Messungen Länge 40—50 μ, Durchmesser 7,5—12 μ], Membran braun, dünn oder etwas verdickt, am Scheitel kaum stärker verdickt und hier etwas vorgezogen."

Verbreitung der Nährpflanze: In ganz Europa, Nord- und Mittelasien etc.

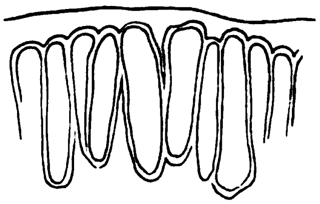


Fig. 14.

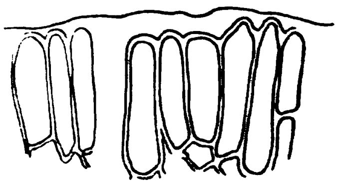


Fig. 15.

Fig. 14. Teleutosporenlager der Mel. Helioscopiae s. str., von Twann.
Fig. 15. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. lucida, von Ungheni.

15. Melampsora auf Euph. lucida Waldst. et Kit.

Material: Von Ungheni, Distr. Jassy (Rumänien), Oktober 1896, Herb. mycol. Romaniae No. 86 [Herb. Sydow].

Material: Von Ungheni, leg. J. C. Constantineanu (Sydow, Uredineen, No. 1845) [Herb. Sydow].

Uredo-Lager klein, dichtstehend, aber nicht verschmelzend, fast ausnahmslos blattunterseits. Mit Paraphysen. Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig, Länge 17,5—25 μ, Durchmesser 16—20 μ. Membran farblos, ca. 2 μ dick, mit locker stehenden Stacheln.

Teleutosporenlager unter der Epidermis, deren Zellen stark zusammengepreßt sind, so daß ihr Lumen nicht mehr sichtbar ist. Zuerst

1) Fischer, Ed., l. c. p. 508.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

am Stengel auftretend als braunrote bis schwarze Striemen, die ihn oft ganz umgreifen. Auf den Blättern bilden sie meist an der Unterseite pechschwarze, selten verschmelzende, kleine, vorgewölbte Flecken. — Die Teleutosporen differieren in Form und Größe. Ihre Dimensionen schwanken zwischen 32—50 μ in der Länge und 7,5—12,5 μ im Durchmesser. Sie sind einzellig, prismatisch. Ihre Membran ist dünn und zeigt nirgends Verdickungen.

Verbreitung der Nährpflanze: In Ost-Deutschland, Süd-Oesterreich, Ungarn, Altai, Transkaukasien.

16. Melampsora auf Euph. Cyparissias L.

(Mel. Euphorbia Cyparissiae).

Material: Von Gampelen, im Oktober 1905 von mir gesammelt, anderes aus dem Herb. des bot. Institutes Bern; Schynige Platte, 15. Aug. 1905, leg. Ed. Fischer.

Uredo-Lager klein, rundlich, blaßgelb, unregelmäßig angeordnet, hauptsächlich auf der Unterseite der Blätter, selten am Stengel; Paraphysen vorhanden. — Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig, Länge 12,5 bis 20 μ, Durchmesser 12,5—17,5 μ. Membran farblos mit ziemlich dicht stehenden Stacheln.

Teleutosporenlager zuerst hell-, dann dunkelbraun, dicht gedrängt und vielfach zusammenfließend, fein runzelig die Blattunterseite bedeckend. Teleutosporen einzellig, meist prismatisch, mehr oder weniger regelmäßig geformt, am Scheitel oft gerundet. Länge 27,5—42,5 μ, Durchmesser 5—12,5 μ. Membran gelbbraun, ohne Verdickungen.

Verbreitung der Nährpflanze: An Wegen, Ackerrändern und unfruchtbaren Weiden von ganz Mitteleuropa.

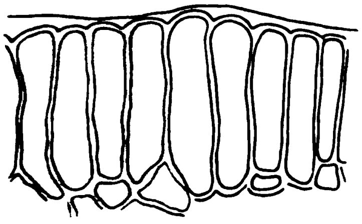


Fig. 16.

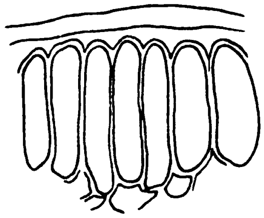


Fig. 17a.

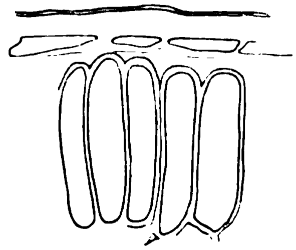


Fig. 17b.

Fig. 16. Teleutosporenlager der Melampsora Euph. Cyparissiae.
Fig. 17. Teleutosporenlager der Melampsora Euph. exiguae. a) am Blatt, b) am Stengel.

17. Melampsora auf Euph. exigua L. (Mel. Euphorbiae exiguae).

Material: Aus dem Herb. des bot. Inst. Bern und aus Hort. Berol., 27. Sept. 1887 [Herb. des bot. Mus. Berlin].

Uredo-Lager auf beiden Blattseiten, klein, dichtstehend; ferner auch am Stengel; Paraphysen vorhanden. Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig, Länge 13,7—21,5 μ, Durchmesser 12,5—20 μ. Membran farblos, bis 2,5 μ dick, stachelig. — Teleutosporenlager meist zu deutlich gewölbten großen Krusten zusammenfließend, schwarz. Am Stengel, besonders an jungen Teilen desselben, verursachen sie schwielenartige Verdickungen. Subepidermal. (Epidermis über den Teleutosporenlagern der Blätter stark zusammengepreßt, am Stengel aber deutlich sichtbar.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Teleutosporen einzellig, prismatisch, ziemlich regelmäßig in Form und Größe; Länge 32,5—47,5 μ, Durchmesser 7,5—12,5 μ. Membran am Scheitel unverdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: In den Getreidegebieten ganz Europas, Syriens, Nordafrikas und der Kanarischen Inseln.

18. Melampsora auf Euph. Peplus L. (Mel. Euphorbiae Pepli).

Material: Gesammelt bei Langental (Bern), September 1905. W. Müller. Von Rojano bei Triest, Mai 1902, leg. P. Sydow. Aus Sydow Uredineen, No. 1740 [Herb. Sydow].

Uredo-Lager unregelmäßig auf der Blattunterseite auftretend, selten oberseits. Durchmesser bis zu 1 mm (meist kleiner). Zudem auch am Stengel. Paraphysen vorhanden. — Uredosporen ellipsoidisch bis kugelig; Länge 17,5—22,5 μ, Durchmesser 15—18,7 μ. Membran farblos, locker stachelig, 1—2 μ dick.

Teleutosporenlager zuerst am Stengel auftretend, als braunrote bis schwarze Striemen, von 1—2 subepidermalen Zellschichten überdeckt.

Auf den Blättern bilden sie meist an der Unterseite pechschwarze, selten verschmelzende, kleine, vorgewölbte Flecken und liegen hier direkt unter der Epidermis — Teleutosporen einzellig, prismatisch, ziemlich gleichförmig. Länge 32,5—47,5 μ, Durchmesser 7,5—10 μ. Membran gelb-braun, dünnwandig; am Scheitel nicht verdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: In ganz Europa, Syrien, Aegypten, Arabien, Persien etc.

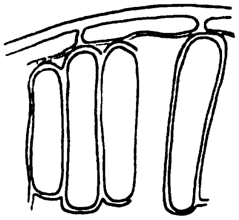


Fig. 18.

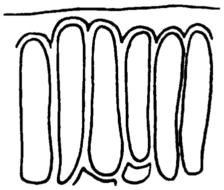


Fig. 19.

Fig. 18. Teleutosporenlager der Melampsora Euph. Pepli.
Fig. 19. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. akenocarpa.

19. Melampsora auf Euph. akenocarpa Guss.

Material: Von Rovella, ad pedem Mt. St. Andreae (Calabrien), 12. Mai 1873, leg. Hutter, Porta et Rigw. [Herb. Sydow].

Uredo-Lager beidseitig am Blatt, vorwiegend aber unterseits, meist regellos auftretend; Durchmesser bis 1 mm. Mit Paraphysen. — Uredosporen kugelig bis kurz ellipsoidisch, Länge 16—20 μ, Durchmesser 15—17,5 μ. Membran farblos mit ziemlich dicht stehenden Stacheln.

Teleutosporenlager auf beiden Blattseiten als kleine dunkelbraune Punkte oder als Ring um ein rückgebildetes Uredo-Lager. — Teleutosporen einzellig, prismatisch, ziemlich regelmäßig in der Form, meist an beiden Enden abgerundet. Membran ohne Verdickung.

Verbreitung der Nährpflanze: Nordspanien, Sizilien, Calabrien.

20. Melampsora auf Euph. Esula L.

Material: Von Lichterfelde bei Berlin, Juni 1889, leg. P. Sydow.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus Sydow, Uredineen No. 135 [Herb. Sydow]; vom Hutberge bei Eisleben, Juli 1874. Aus Herb. Joh. Kunze [Herb. Sydow]; von Lichterfelde bei Berlin, Juni 1887, leg. P. Sydow. Aus Mycotheca Marchica No. 1427 [Herb. Sydow].

Uredo-Lager sehr klein, in unregelmäßiger Stellung meist blattunterseits. An den befallenen Stellen ist das Blatt an der Oberseite leicht gelblich verfärbt. — Uredosporen kugelig oder ellipsoidisch, im Mittel 17,5 μ lang und 16 μ breit. Membran farblos, mit ziemlich dicht stehenden Stacheln.

Teleutosporenlager blattunterseits, braun, oft ringförmig um ein Uredo-Lager entstehend, nicht oder nur selten verschmelzend; subepidermal, ohne daß jedoch die Epidermiszellen noch zu erkennen wären.

Teleutosporen einzellig, prismatisch oft mehr keilförmig oder etwas gekrümmt, vielfach oben zugezpitzt; Länge 27,5—45 μ, Durchmesser 6—10 μ. Membran gleichmäßig dick.

Verbreitung der Nährpflanze: In feuchten Gegenden Europas, im Kaukasus, Persien, Sibirien etc.

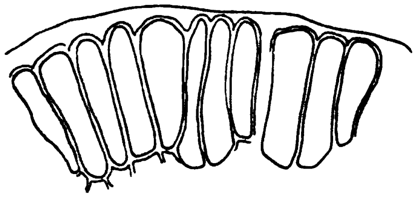


Fig. 20.

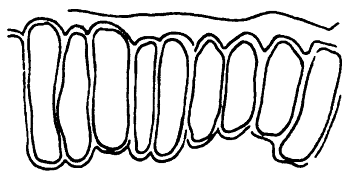


Fig. 21.

Fig. 20. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. Esula, von Lichterfelde.
Fig. 21. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. palustris, von Yverdon.

21. Melampsora auf Euph. palustris L.

Material: Von Grandson (entre la Brivaz et le Bay), August 1901, leg. E. Major [Herb. Major]; vom Lac de Neuchâtel près Yverdon, 14. Aug. 1902, leg. E. Major [Herb. Sydow].

Uredo-Lager auf der Blattunterseite als winzig kleine mehr oder weniger dichtstehende blaßgelbe Punkte. Paraphysen vorhanden. Uredosporen kugelig oder ellipsoidisch, Länge 15—20 μ, Durchmesser 12,5—17,5 μ. Membran 1—2 μ dick, mit locker gestellten Stacheln.

Teleutosporenlager unter der Epidermis, bei der Reife kohlschwarz, einzeln oder zu größeren Flecken von unregelmäßiger Form vereinigt; blattunterseits, Teleutosporen einzellig, prismatisch. Scheitel flach oder wenig vorgezogen, Länge 30—42 μ, Durchmesser 10—14 μ. Membran ca. 2 μ stark, am Scheitel unverdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: Im sumpfigen Nord- und Mitteleuropa bis Norditalien und Griechenland.

22. Melampsora auf Euph. verrucosa Lam.

Material: Vom Mont de Baulmes (Waadtländer Jura), August 1902, leg. E. Major [Herb. Sydow].

Uredo-Lager als sehr kleine, scharf abgegrenzte Flecken auf der Unterseite der Blätter; mit Paraphysen. — Uredosporen kugelig oder

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ellipsoidisch, Länge 13,7—16 μ, Durchmesser 12—15 μ. Membran farblos, 1—2 μ dick, locker stachelig.

Teleutosporenlager subepidermal, dunkelbraun, stark gewölbt, meist einzeln, selten ineinander fließend, blattunterseits. — Teleutosporen prismatisch, am Scheitel mehr oder weniger ausgezogen, gegen die Basis oft etwas enger werdend, 30—42,5 μ lang, 8—12 μ im Durchmesser. Membran dünn, ca. 1,5 μ, unverdickt, braun.

Verbreitung der Nährpflanze: Nordspanien, Ostfrankreich, Schweiz, Süddeutschland, Norditalien etc.

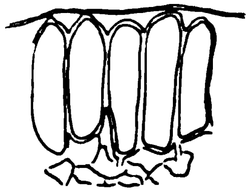


Fig. 22.

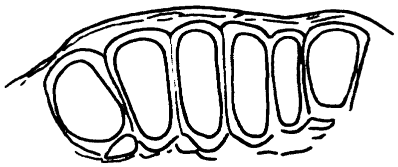


Fig. 23.

Fig. 22. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. verrucosa aus dem Jura.

Fig. 23. Teleutosporenlager der Melampsora auf Euph. adenochlora, von Japan.

23. Melampsora auf Euph. adenochlora Morr et Decsn. = E. Japonica Siebold.

Material: Von Akabane, Prov. Ungashi (Japan), Mai 1899, leg. Toji Nishida [Herb. Sydow].

Uredo-Lager größtenteils auf der Unterseite der Blätter gelegen, von kleinem Durchmesser (<0,5 mm), rundlich; mit Paraphysen. Uredosporen ellipsoidisch oder kugelig, Länge 15—20 μ, Durchmesser 15—17,5 μ. Membran farblos, ziemlich dicht stachelig.

Teleutosporenlager sehr klein, aber in Flecken dichtgedrängt stehend, meist nicht verschmelzend, von braun-schwarzer Farbe; wenig vorgewölbt; blattunterseits und subepidermal. — Teleutosporen einzellig, mehr oder weniger prismatisch, oben und unten deutlich abgerundet, die randständigen mehr ellipsoidisch. Länge 20—42 μ, Durchmesser 8—15 μ. Membran gelbbraun, dick (2,5—3,5 μ), ohne Verdickung am Scheitel.

Verbreitung der Nährpflanze: In Japan.

24. Melampsora auf Euph. muricata Bieb.

Material: Von Daradschitschek, leg. K. Koch [Herb. Sydow].

Uredo-Lager klein, rundlich, blaßgelb, hauptsächlich auf der Unterseite der Blätter, selten am Stengel; mit Paraphysen. — Uredosporen ellipsoidisch oder kugelig, Länge 17,5—22,5 μ, Durchmesser 15—20 μ. Membran farblos, locker stachelig.

Teleutosporenlager hell- bis dunkelbraun, dicht gedrängt und vielfach zusammenfließend, fein runzelig die Blattspreite unterseits bedeckend. Lumina der sie überdeckenden Epidermisschicht nicht sichtbar.

Teleutosporen kurz prismatisch, an Scheitel und Basis oft stark abgerundet. Länge 30—37 μ, Durchmesser 10—15 μ. Außenseite unverdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: In Kaukasien, Transkaukasien, Nordpersien.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

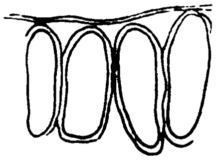


Fig. 24.

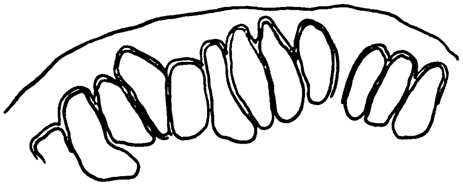


Fig. 25.

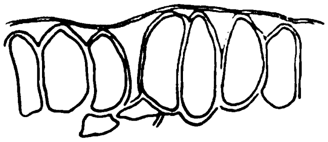


Fig. 26.

Fig. 24. Teleutosporenlager der **Melampsora** auf **Euph. muricata**.
Fig. 25. Teleutosporenlager der **Melampsora** auf **Euph. virgata**, von Moskau.
Fig. 26. Teleutosporenlager der **Melampsora** auf **Euph. pekinensis**, von Tokio.

25. Melampsora auf Euph. virgata Waldst. et Kit.

Material: Von Moskau, August 1898, leg. Heyden [Hennings]; von den Rüdersdorfer Kalkbergen, August 1897, leg. P. Sydow (Mycotheca Marchica No. 4738) [Herb. Sydow].

Uredo-Lager blattunterseits als kleine, scharf abgegrenzte Flecken; mit Paraphysen. Uredosporen kugelig oder kurz ellipsoidisch, Länge 15—20 μ, Durchmesser 14—16 μ. Membran farblos, locker stachelig.

Teleutosporenlager mit bloßem Auge kaum sichtbar, meist einzeln, nicht zu deutlichen Gruppen vereinigt, schwarz. Die über dem Lager befindliche Epidermisschicht ist stark zusammengepreßt. — Teleutosporen meist prismatisch, doch ist die Form infolge lockerer Stellung der Sporen ziemlich variabel. Am Scheitel sind sie oft zu einer Spitze ausgezogen. Membran dünn (1,5—2 μ), in den äußeren Teilen unverdickt.

Verbreitung der Nährpflanze: In Mähren, Böhmen, Oesterreich-Ungarn, Rußland und Macedonien.

26. Melampsora auf Euph. pekinensis Boiss.

Material: Von Tokio (Japan), leg. Shirai [Herb. des bot. Mus. Berlin]; von Tokio, September 1898, leg. Shirai [Herb. Sydow].

Uredo-Lager punktförmig, auf der Blattunterseite, von einem blaßgelben, undeutlich konturierten Hof umgeben, der auch auf der Oberseite des Blattes sichtbar ist. Paraphysen vorhanden. — Uredosporen ellipsoidisch oder kugelig, Länge 15—20 μ, Durchmesser 12,5 bis 17,5 μ. Membran farblos, mit locker gestellten Stacheln besetzt.

Teleutosporenlager blattunterseits, klein, dunkelbraun, flach, meist in Gruppen vereinigt, die am Blatt als dunkle Flecken sichtbar sind; bisweilen auch am Stengel. — Teleutosporen einzellig, subepidermal, ziemlich variabel in der Form. Im allgemeinen prismatisch oder mehr oder weniger eiförmig, am Scheitel abgerundet oder ausgezogen. Länge 20—35 μ, Durchmesser 7,5—12,5 μ. Membran 1,5—2,5 μ dick, braun, ohne Verdickungen.

Verbreitung der Nährpflanze: In China bei Peking, Japan.

27. Melampsora auf Euph. dulcis Jcq.

[Mel. Euphorbiae dulcis Otth].

Material: Aus meinem Herbar, vom Otthschen Originalstandort (Wylerhölzli bei Bern).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ihre Charakteristik lautet nach Otth[1]):

a) Epitea: Vix distincta a vulgari E. Euphorbiae (DC.).

b) Melampsora: Hypophylla. Pulvinuli aggregati, badii, impoliti. Sporangia flavido brunnea, breviter et crassiuscule cylindrica, sive e mutua pressione subprismatica, invicem arcte cohaerentia.

Fischer[2]) beschreibt sie etwas eingehender:

„Uredo-Lager kreisrund, blattunterseits auf bleichgelben, nicht scharf begrenzten Flecken, einzeln oder zu mehreren beisammen, mitunter in kreisförmiger Anordnung um ein zentrales Sporenlager herum, meist nicht mehr als $^1/_2$ mm im Durchmesser, orangegelb, mit sehr zahlreichen glatten, oben kopfig verdickten Paraphysen, deren Durchmesser am Kopfe 14—26 μ beträgt. Uredosporen ellipsoidisch oder kugelig; Länge 16—24 μ, Durchmesser 16—20 μ. Membran farblos, stachelig. Inhalt orangefarben (nach Dietel).

Teleutosporenlager subepidermal, in großer Anzahl dichtgedrängt, zu großen Flecken auf der Blattunterseite gruppiert, mitunter auch am Stengel, erst blaß-gelbbraun, später schokoladebraun, oft ziemlich dunkel (aber nie schwarz). — Teleutosporen einzellig, braun, cylindrisch, prismatisch oder locker gestellt und dann eiförmig; Länge 18—30 μ, Durchmesser 12—22 μ; Membran stark und gleichmäßig verdickt (bis 3 μ), gelblich-braun."

Verbreitung der Nährpflanze: In Waldgegenden von ganz Mitteleuropa bis Rußland und in den Gebirgen Südeuropas.

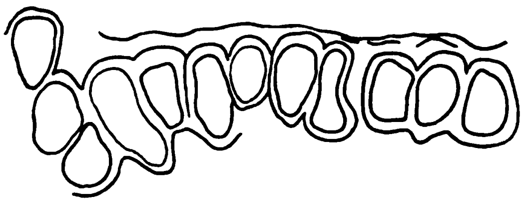


Fig. 27.

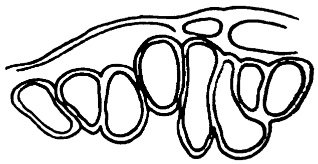


Fig. 28.

Fig. 27. Teleutosporenlager der Mel. Euphorbiae dulcis Otth, von Bern.
Fig. 28. Teleutosporen der Melampsora auf Euph. carniolica, von Laibach (ohne Tubusauszug gezeichnet, daher relativ kleiner).

28. Melampsora auf Euph. carniolica Jcq.

Material: von Laibach, leg. Voss [Herb. des bot. Mus. Berlin].

Weil morphologisch mit der Mel. Euphorbiae dulcis übereinstimmend, wurde sie von Magnus zu dieser Form gestellt.

Ihre morphologische Charakteristik ist dieselbe. Auch meine Untersuchungen ergaben eine genaue Uebereinstimmung mit den Mel. Euphorbiae dulcis.

Verbreitung der Nährpflanze: Mittel- und Südeuropa.

29. Melampsora auf Euph. platyphylla L.

[Mel. Euphorbae strictae].

Material: von Goerz (Oesterreich), 27. Mai 1902, leg. P. Sydow. [Aus Sydow, Uredineen, No. 1688.]

1) Otth, G., l. c.
2) Fischer, Ed., l. c. p. 510.

Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Uredolager rundlich oder länglich, bis 1 mm im Durchmesser, vorwiegend auf der Blattunterseite, blaßgelb, mit Paraphysen untermischt. — Uredosporen kugelig oder ellipsoidisch. Länge 12,5—18,7 μ, Durchmesser 10–17,5 μ. Membran farblos, locker stachelig.

Teleutosporenlager subepidermal als kleine, selten 1 mm breite dunkelbraune bis schwarze Flecken, kaum vorgewölbt; auf beiden Blattseiten. — Teleutosporen einzellig, ziemlich locker gestellt, in Form und Querschnitt variabel, selten prismatisch, häufiger ellipsoidisch. Länge 17,5—30 μ, Durchmesser 10—15 μ. Membran braun, überall von gleicher Dicke (2,5 μ).

Verbreitung der Nährpflanze: Auf Kulturland und Geröll von ganz Europa bis Griechenland und Rußland.

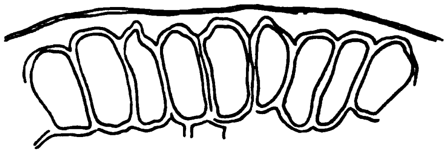


Fig. 29. Teleutosporenlager der Mel. Euphorbiae strictae auf E. platyphylla.

30. Melampsora auf Euph. Amygdaloides L.

[Mel. Euphorbiae Amygdaloides].

Davon stand mir Material zur Verfügung:

aus dem Herb. des bot. Mus. Berlin: von Belgrad, August 1905, leg. Ranojević, von Niffringen, leg. Schroeter;

aus dem Herb. Sydow: aus Salzburg (Kuhberg), Mai 1877, leg. M. Eysn.;

aus meinem Herbar: gesammelt im Oktober 1905 bei Neuenburg.

Uredosporen mit den allgemeinen Merkmalen.

Teleutosporen waren im ganzen Herbarmaterial keine vorhanden.

(Siehe Tabelle p. 560.)

Aus dieser Uebersichtstabelle und aus den Textfiguren geht als Hauptresultat hervor, daß die Euphorbien-Melampsoren in ihren Teleutosporen eine Reihe bilden, welche von dichtgestellten, langprismatischen, schlanken Formen, deren eine z. B. von Bresadola auf Euph. dendroides beschrieben wurde, übergeht zu mehr locker angeordneten, fast ellipsoidischen Formen vom Typus der Mel. Euphorbiae dulcis Otth, und zwar ist dieser Uebergang nirgends ein sprungweiser, sondern ein ganz allmählich gleitender sowohl in Bezug auf die Länge als auch auf die Form. Die Grenzen werden bei dem von mir untersuchten Material gebildet, einerseits von der Melampsora auf Euph. terracina (60—87 μ lang), andererseits von der Melampsora auf Euph. platyphylla (17—35 μ lang). Die Uredosporen gehen damit ungefähr parallel, allerdings mit viel geringerer Schwankung der Maximal- und Minimalwerte. Es ist infolgedessen unmöglich, streng abgegrenzte morphologische Arten aufzustellen. Wir müssen vielmehr eine Art Kompromiß treffen, indem wir einige Sammeltypen schaffen, welche jeweilen einige morphologisch ähnliche Formen umfassen. Wir legen dabei die Beschaffenheit der Teleutosporen zu Grunde, da uns die Uredosporen und Paraphysen infolge ihrer Gleichartigkeit in Form und Größe keine festen Anhaltspunkte geben, und trennen folgendermaßen ab:

Teleutosporenlänge 60—90 μ = Typus der Mel. Gelmi Bres.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zahlenmäßige Zusammenstellung der morphologischen Verhältnisse.

Melampsora auf	Teleutosporen		Uredosporen		Scheitel-verdickung
	Länge	Durchm.	Länge	Durchm.	
1. E. terracina	60—87	7,5—10	15—25	15—23,7	vorhanden
2. E. hebecarpa	60—80	7,5—11	17,5—22,5	15—17,5	nicht vorhanden
3. E. dendroides	50—80	9—12	21—24	16—21	vorhanden
4. E. Characias	50—65	7,5—10	20—23	17,5—20	vorhanden
5. E. graeca	42—67	7,5—12,5	16—20	15—17,5	„
6. E. Gerardiana	45—62	7,5—12,5	17,5—22	14—18,7	„
7. E. falcata	45—62	7,5—12	15—21	14—18	„
8. E. macrocarpa	42,5—62,5	7,5—10	17,5—22,5	16—20	„
9. E. oxyodonta	37,5—62	7,5—10	—	—	„
10. E. orientalis	40—62	7,5—10	16—18	15—17	nicht vorhanden
11. E. pterococca	37,5—55	6—10	—	—	„ „
12. E. Schimperiana	45—50	7,5—10	16,7—22,5	14,7—17,5	„ „
13. E. peploides	40—50	7,5—12	17,5—20	15—17,5	„ „
14. E. helioscopia	40—50	7,5—12	18—21	14—18	„ „
15. E. lucida	32—50	7,5—12,5	17,5 - 25	16—20	nicht vorhanden
16. E. Cyparissias	32,5—50	5—13,7	12,5—20	12,5—17,5	„ „
17. E. exigua	35,5—47,5	7,5—12,5	13,7—21,5	12,5—20	„ „
18. E. Peplus	32,5—47	7,5—10	17,5—22,5	15—18,7	„ „
19. E. akenocarpa	32,5—45	7,5—10	16—20	15—17,5	„ „
20. E. Esula	27,5—45	6—10	15—20	14—17,5	„ „
21. E. palustris	30—42,5	10—15	15—20	12,5—17,5	„ „
22. E. verrucosa	30—42,5	8—11	13,7—16,2	12—15	„ „
23. E. adenochlora	20—42	8—15	15—20	15—17,5	nicht vorhanden
24. E. muricata	30—37,5	10—15	17,5—22,5	15—20	„ „
25. E. virgata	20—35	7,5—12,5	15—20	14—16	„ „
26. E. pekinensis	20—35	7,5—12,5	15—20	12,5—17,5	„ „
27. E. dulcis	20—35	12,5—15	16—24	16—20	„ „
28. E. camiolica	17,5—35	12,5—15	16—22,5	16—20	„ „
29. E. platyphylla	17,5—30	10—15	12,5—18,7	10—17,5	„ „

umfaßt die Formen auf E. terracina, E. hebecarpa und E. dendroides.

Teleutosporenlänge 40—65 μ mit Scheitelverdickungen = Gerardianatypus. Es gehören dazu die Melampsora auf E. Characias, E. graeca, E. Gerardiana, E. falcata, E. macrocarpa, E. oxyodonta.

Teleutosporenlänge 40—60 μ ohne Scheitelverdickung = Helioscopiatypus mit der Melampsora auf E. orientalis, pterococca, Schimperiana, peploides, helioscopia.

Teleutosporenlänge 30—50 μ = Cyparissiastypus, dem zugerechnet werden können die Formen auf E. lucida, Cyparissias, exigua, Peplus, akenocarpa, Esula, palustris, verrucosa.

Teleutosporenlänge 17,5—35 μ = Dulcistypus. Ich rechne dazu die Melampsora auf E. adenochlora, muricata, virgata, pekinensis, dulcis, carniolica und platyphylla.

Es ist klar, daß eine kleine Schwankung in den Maxima und Minima hier unter Umständen eine ganz beträchtliche Verschiebung in der Anordnung zur Folge haben kann. Es müßten zur völligen Sicherstellung der Resultate viel mehr Messungen vorgenommen werden, als es mir möglich war. Mir kam es jedoch in erster Linie darauf an, für die Euphorbien-Melampsoren einen allgemeinen Ueberblick über die Variabilität der Formen und deren gegenseitige Beziehungen zu bekommen, und dazu reichen meine Untersuchungen völlig aus.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir charakterisieren nun die einzelnen Gruppen eingehender:

1. Typus der Mel. Gelmi: Teleutosporen langprismatisch, schlank, sehr dichtgestellt. Länge 60—90 μ, Durchmesser 7,5—12 μ, am Scheitel meist sichtbar verdickt.

2. Gerardianatypus: Teleutosporen prismatisch, langgestreckt, an Basis und Scheitel meist abgerundet; Länge 40—65 μ, Durchmesser 7,5—12 μ, am Scheitel deutlich verdickt.

3. Helioscopiatypus: Teleutosporen prismatisch, 40—60 μ lang, 7,5—12 μ breit, dünnwandig, ohne Verdickung am Scheitel.

4. Cyparissiastypus: Teleutosporen prismatisch, Länge 30—50 μ, Durchmesser 7,5—15 μ, dünnwandig, mehr oder weniger regelmäßig in der Form, am Scheitel abgerundet oder ausgezogen, aber nicht verdickt.

5. Dulcistypus: Teleutosporen prismatisch bis eiförmig oder rundlich, locker stehend, Länge 20—40 μ, Durchmesser 7,5—15 μ; mit meist dicker Membran, am Scheitel unverdickt.

Im Vergleich zu der bisherigen Einteilung haben wir also den Unterschied, daß an Stelle des Begriffs der Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter 3 morphologisch selbständige Typen treten, nämlich der Gerardiana-, Helioscopia- und Cyparissias-Typus. Damit geht natürlich auch eine Trennung der bisher zur Mel. Helioscopiae Pers. gehörigen Formen Hand in Hand. — Ferner gehört die Melampsora auf Euph. stricta und E. platyphylla nicht zur Helioscopia-Form im alten Sinne, sondern zum Dulcis-Typus, ebenso diejenige auf E. Lathyris.

Es stellt sich natürlich sofort die Frage, ob die von uns neu aufgefundenen biologischen Arten auch morphologisch selbständig seien. Die Antwort lautet: in gewissem Sinne ja, denn wir haben den Begriff der Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter auch in 3 verschiedene Typen auflösen können. Wie sind nun die 7 biologischen Arten auf die 3 morphologischen verteilt? Darüber gibt uns die folgende Uebersicht Aufschluß, der ich der Vollständigkeit halber die schon vorher abgetrennten Arten zufüge:

1. Mel. Gelmi Bres.

2. Mel. Helioscopiae (Pers.) Winter
   - Mel. Euphorbiae Gerardianae (n. sp.) auf E. Gerardiana und E. falcata
   - Mel. Helioscopiae s. str. (n. sp.) auf E. helioscopia
   - Mel. Cyparissiae (n. sp.) bis jetzt zerfallend in die biologischen Arten:
     - a) Mel. Euphorbiae Cyparissiae
     - b) „ „ exiguae
     - c) „ „ Pepli

3. Mel. Euphorbiae dulcis Otth, zerfallend in die biologischen Arten:
   - a) Mel. Euphorbiae dulcis
   - b) „ „ strictae

Wohin die Form auf Euph. Amygdaloides gehört, kann ich infolge Fehlens der Teleutosporen nicht bestimmt angeben. Aus dem Habitus, der Verwandtschaft und der Verbreitung der Nährpflanze schließe ich, daß sie dem Typus der Mel. Gelmi oder dem Gerardiana-Typus zuzuzählen wäre. — Nach den nämlichen Gesichtspunkten und infolge ihrer biologischen Uebereinstimmung ist andererseits die Melampsora auf E. stricta, von der mir ebenfalls kein Teleutosporenmaterial zu Händen kam, an die Form auf Euph. platyphylla anzuschließen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beziehungen zwischen Standort und Teleutosporenform.

Unsere Zusammenstellung lehrt ferner, daß gewisse Beziehungen bestehen zwischen der örtlichen Verbreitung der Nährpflanze und der Teleutosporenform der sie bewohnenden Melampsoren. Die stark langgestreckten, an ihrem Scheitel verdickten Wintersporen vom Typus der Mel. Gelmi und der Mel. Gerardianae gehören alle südlichen (mediterranen oder orientalischen) Formen an im Gegensatz zu den kurzen unverdickten, wie sie auf den meist einjährigen Euphorbien des weniger besonnten Mittel- und Nordeuropa vorkommen. Allerdings gibt es auch in südlichen Gegenden Melampsoren-Teleutosporen von mittlerer Größe ohne jegliche Membranverdickung, ja sogar kurze Formen (auf E. pekinensis). Es kann vielleicht die Länge der Teleutosporen und diejenige der Palissadenzellen in Zusammenhang gebracht werden, so daß wir auch bei den Teleutosporen in gewissem Sinne Sonnen- und Schattentypen unterscheiden können.

Lage der Teleutosporenlager im Blattgewebe.

Die Teleutosporenlager sind bei den Euphorbien-Melampsoren, wie aus den Figuren ersichtlich, subepidermal. Was die Deutlichkeit anbetrifft, mit welcher die Epidermisschicht über diesen Fruktifikationen sichtbar ist, können wir verschiedene Fälle unterscheiden:

1. Ihre Zellen haben die normale Form ganz oder fast unverändert beibehalten. 2. Sie sind zusammengedrückt, aber ihr Lumen ist noch zu erkennen. 3. Die Epidermisschicht überzieht als scheinbar undifferenzierte, mehr oder weniger dicke Membran die Pilzfruktifikation.

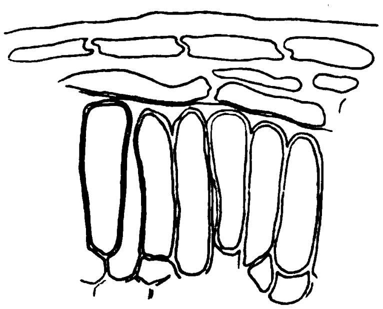


Fig. 30.

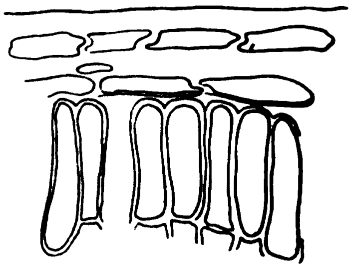


Fig. 31.

Fig. 30 u. 31. Von subepidermalen Schichten bedeckte Teleutosporenlager von Mel. Euphorbiae Pepli und Mel. Euphorbiae exiguae.

Diese verschiedenen Modifikationen hängen aber nicht vom Pilz ab, sondern vom anatomischen Bau der Nährpflanze, speziell deren Epidermiswandungen, und zwar kommen hauptsächlich die radialen Epidermiswände in Betracht. Sind diese stark, so werden sie sich nicht leicht zusammenpressen lassen, und infolgedessen bleibt das Lumen sichtbar; sind sie aber schwach, so wird die Innenwand leicht an die Außenwand gepreßt und das Lumen schwindet. Bezüglich der Epidermis verhalten sich natürlich nicht alle Euphorbia-Species gleich. Es spielen da wahrscheinlich Standortsverhältnisse eine wichtige Rolle.

Es kommt aber vor, daß manchmal über den Teleutosporenlagern zu der Epidermis noch ein oder zwei subepidermale Schichten liegen (Fig. 30 und 31). Dies ist z. B. der Fall am Stengel von Euphorbia

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Peplus und Euph. exigua. Der Grund ist wohl darin zu suchen, daß die subepidermale Schicht hier in ganz festem Zusammenhang mit der Epidermis steht und dazu noch stark entwickelt ist, so daß die Anlegung eines Teleutosporenlagers zwischen diesen Schichten unmöglich war.

Diese Verhältnisse sind auch darum interessant, da Arthur bei seinem Vorschlag zur Neueinteilung der Uredineen ein sehr großes Gewicht legt auf den Ort der Anlage der Fruktifikationen [1]).

Die vorliegenden Tatsachen sprechen jedoch gegen ein solches Einteilungsprinzip, denn die Teleutosporenlager an Blatt und Stengel von Euphorbia Peplus rühren doch vom nämlichen Pilz her.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Chlorose der Reben.

[Arbeiten der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Von Dr. **Emil Molz.**

Mit 4 Tafeln und 8 Abbildungen im Text.

(Fortsetzung.)

Untersuchungen über die Chlorose der Reben im Weinbaugebiete von Rheinhessen.

Das Weinbaugebiet von Rheinhessen hat besonders stark unter der Chlorose zu leiden. Der Schaden, den hier diese Krankheitserscheinung bewirkt, ist ein sehr bedeutender und ist zahlenmäßig wohl nur sehr schwer auszudrücken, da die ungleich verminderte Fruchtbarkeit der erkrankten Stöcke und vor allem die infolge der Abstufungen in dem Grade der Erkrankung verschieden reduzierte Zuckerbildung der chlorosierten Blätter selbst bei Fixierung eines besonderen Falles, ein allgemeines Urteil nach dieser Richtung nicht zulassen.

Die weite Verbreitung der Chlorose in Rheinhessen und meine genaue Kenntnis der dortigen Weinbauverhältnisse ließ mir dieses Weinbaugebiet für meine Untersuchungen besonders vorteilhaft erscheinen.

Durch sehr zahlreiche Beobachtungcn habe ich festgestellt, daß die Chlorose hier fast ausschließlich in den schweren Böden des Cyrenenmergels und Septarientons auftritt, und daß in nassen Jahren die Krankheit an Ausdehnung und Intensität erheblich zunimmt. Um für diese Beobachtungen eine breitere Basis zu schaffen und durch eine möglichst objektive Feststellung des Intensitätsgrades der Chlorose in den einzelnen Jahren eine brauchbare Grundlage für dessen Beziehungen zu den hydrologischen Bedingungen der Wachstumsperioden der Reben zu erhalten, habe ich zunächst eine schriftliche Umfrage bei über 100 weinbautreibenden Gemeinden dieses Bezirkes veranstaltet. Die ausgeschickten Fragebogen wurden fast sämtlich beantwortet, und es zeigte sich, daß in 88 Gemarkungen Rheinhessens die Rebenchlorose ein mehr oder weniger großes Ausbreitungsgebiet hat.

---

1) Arthur, J. C., Eine auf die Struktur und Entwickelungsgeschichte begründete Klassifikation der Uredineen. (Abdr. a. d. Résultats scientifiques du Congrès international de Botanique. Wien 1905.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der in Anwendung gekommene Fragebogen war möglichst einfach. Er enthielt nur folgende Rubriken:

Stärke des Auftretens der Gelbsucht in den letzten 5 Jahren: Angaben: stark, mittelstark oder schwach					In welchen Böden wurde die Gelbsucht beobachtet? Angaben: Kies Sand, sandiger Lehm, Lehm, Mergel, Ton, Letten	Vermeintliche Ursachen	Sonstige Bemerkungen
1901	1902	1903	1904	1905			

In einem Begleitschreiben war auf den Zweck dieser Untersuchung hingewiesen. Die Ausfüllung der Fragebogen erfolgte durch die Bürgermeister der jeweiligen Gemeinde unter Zuziehung der Lokalkommission und unter Zugrundelegung der Tagebücher der letzteren.

Nachstehend sei das Resultat dieser Enquete bekannt gegeben. Bei ihrer Zusammenstellung wurden die Begriffe des Intensitätsgrades: stark, mittelstark und schwach in die Zahlen 3, 2 und 1 umgewandelt, 0 bedeutet, daß die Krankheit nicht aufgetreten ist, und ein Strich besagt, daß sichere Angaben nicht gemacht werden konnten. In einigen Fällen kam es vor, daß von der vorgeschriebenen Bezeichnung der Ausdrucksweise für die Stärke des Auftretens der Krankheit abgewichen wurde, und andere Ausdrücke gebraucht wurden: beispielsweise statt „schwach“, „mittelstark“, „stark“ kam „stark“, „stärker“, „am stärksten“ in Anwendung. Für unsere Zwecke hat eine solche Bezeichnung nun den gleichen objektiven Wert wie die vorgeschriebene, denn die vergleichende Schätzung des Intensitätsgrades der Chlorose in den verschiedenen Jahren durch praktische Winzer ist, selbst wenn sie sich auf schriftliche Aufzeichnungen stützt, vorerst immer mehr oder weniger relativ und subjektiv. Erst durch die Benutzung einer sehr großen Anzahl solcher Werte ergibt sich ein Mittelwert, der sich stark einem durchaus objektiven Maßstab annähert. Die Relativität glaubten wir von vornherein durch Festlegung der zu gebrauchenden Begriffswörter zum größten Teil ausschalten zu können. Wenn von einiger Seite andere Begriffswörter eingeführt wurden, so ließen sich diese ohne Gefährdung ihres Wertes doch leicht in unsere Gradstufen einfügen. Der Fall war übrigens so selten, daß die Zahlen der Mittelwerte dadurch kaum berührt werden. Hinter den landläufigen Ausdrücken der Bodenarten habe ich da, wo es mir möglich war, nach der geologischen Karte von Lepsius (Das Mainzer Becken) ihre geologische Bezeichnung eingetragen.

(Siehe Tabellen p. 566—571.)

Wenn wir aus den vorstehenden Zahlen in den einzelnen Jahren die Summen mit der Anzahl der gemachten Angaben[1]) dividieren, so erhalten wir die Mittelwerte für die einzelnen Jahre, die nun in Vergleich gestellt werden können.

	1901	1902	1903	1904	1905
Mittel	1,69	1,81	1,61	1,26	0,89

1) Wobei natürlich ein Strich nicht zählt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei Angabe der „vermeintlichen Ursachen“ tritt auch hier in starker Prävalenz die zu große Feuchtigkeit des Bodens (Nässe) hervor. Dies steht in guter Uebereinstimmung mit den beobachteten chlorosierenden Bodenarten, die vorwiegend zu den schweren und sehr schweren Böden zählen, deren wasserfassende Kraft eine sehr große ist. Leichte Bodenarten sind nur verschwindend wenige angegeben, nur den Kiesboden finden wir etwas häufiger, was vorerst einigermaßen überraschen muß, da dieser Boden im Vergleich mit den vorgenannten doch völlig extreme Eigenschaften besitzt. Für diese Erscheinung gewinnen wir aber Verständnis, wenn wir die Tatsache berücksichtigen, daß in Rheinhessen die diluvialen Kiese und Schotter sehr häufig auf Septarienton lagern oder mit tonreichen Lagen wechseln [1]). Von seiten des praktischen Weinbauers werden diese Verhältnisse seltener beobachtet, da man beim Roden gewöhnlich nur bis 60 cm tief geht. Einmal finden wir tatsächlich die Bezeichnung „Kies mit Lettenuntergrund“ (Weinolsheim).

Die Kiesböden sind infolge ihrer starken Durchlässigkeit namentlich in den sommerlichen Trockenperioden sehr wasserarm, auch ihr Nährstoffgehalt ist wegen des geringen Vorhandenseins der Feinerde nur gering. Die Wurzeln der Reben gehen in diesen Böden deshalb tiefer hinab und suchen die feuchten und nährstoffreichen Tonschichten auf, selbst wenn diese mehrere Meter tief darunter lagern. Diese Tonlagen behalten immer eine genügende Feuchtigkeit, und die Wurzeln breiten sich deshalb in ihnen aus.

Aehnliche Verhältnisse habe ich in der Gemarkung Welgesheim beim Umroden eines Weinberges beobachten können, woselbst sich eine sehr steinige und lockere, etwa 50 cm mächtige Schicht der Corbiculastufe im Hangenden von tonreichem Cyrenenmergel befand. Diese Tonschicht zeigte sich in ihrem oberen Teil von einem Netz feinster Wurzeln von der früheren Rebbestockung durchwachsen. Chlorotische Erscheinungen sind an dieser Stelle an den Reben nicht bekannt. Die recht steile Lage ohne Vertiefungen sorgt für Abfluß von überschüssigem Wasser, und die stärkere Insolation wirkt in gleichem Sinne. Anders ist dies aber, wo oberflächliche Bodenmulden oder Einsenkungen in einer im Liegenden befindlichen, undurchlässigen Bodenschicht vorhanden sind. In regenreichen Perioden wird sich dann an diesen Stellen das Wasser ansammeln, und das Erscheinen der Chlorose ist bei Gegenwart von Kalk, wie wir später sehen werden, die mittelbare Folge der übermäßigen Feuchtigkeit.

Eine gute Stütze für diese Ansicht erhalten wir durch den Nachweis des engen Zusammenhanges zwischen der Höhe des Intensitätsgrades der Chlorose in den einzelnen Jahren, für welche die angegebenen Mittelwerte unserer Enquete einen verwendbaren Maßstab geben, und der Größe des Mittels der Niederschlagssummen in den jährlichen Vegetationsperioden. Wir dürfen hierbei naturgemäß nicht kurzerhand die Niederschlagsmenge des Kalenderjahres in Rücksicht ziehen, sondern müssen in die für unsere Zwecke in Betracht kommende Jahresperiode alle jene Monate einbegreifen, deren Niederschlagsmengen in längerer oder kürzerer Zeit für die Jahresentwickelung der Rebe und die Entstehung der Chlorose in Frage kommen. In dieser Beziehung erscheint mir der Zeitraum vom 1. September des einen bis 31. August des folgenden Jahres als am meisten diesen Verhältnissen entsprechend, denn im September ist

1) Vergl. Lepsius, R., Das Mainzer Becken. 1883. p. 157 u. 158.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung der Resultate der Umfrage über das Auftreten der Rebenchlorose in Rheinhessen.

Lfd. No.	Gemarkung	Stärke d. Auftretens der Krankheit					Bodenarten, in denen Chlorose beobachtet wurde		Vermeintliche Ursachen	Bemerkungen
		1901	1902	1903	1904	1905	Landläufige Bezeichnung	Geologische Bezeichnung		
1	Abenheim	2	1	3	1	3				
2	Albig	2	1	2	1	1	Lehm, Kalksteinböden und Letten	Corbiculakalk, Cerithienkalk, Cyrenenmergel	Nässe, spätes Heften	
3	Appenheim	—	3	3	2	1	Ton und Letten	Cyrenenmergel	Grundwasser	
4	Armsheim	2	1	0	0	0	Letten	Septarienton, Cyrenenmergel	Nässe	
5	Aspisheim	2	3	2	1	1	Mergel, Ton und Letten	Cyrenenmergel, Septarienton, Cerithienkalk	Grundwasser	
6	Bechtheim	2	2	2	1	1	Lehm und Kalkmergel	—	LangeRegenperioden. Festwerden des Bodens, wenn eine Trockenperiode auf starken Regen folgt	Die gelben Stellen konnten durch leichtlösliche Düngesalze beseitigt werden
7	Bechtolsheim	—	3	—	—	—	Sandiger Lehm, Lehm und Letten		Große Trockenheit	
8	Biebelnheim	—	3	—	—	—	1902 in allen Bodenarten	—	Naßkaltes Frühjahr	
9	Bornheim	1	2	1	1	0	Sandiger Lehm mit Letten vermischt	Septarienton	Ueberschüssiger Kalk	
10	Bosenheim	2	1	1	2	1	In Mulden im Lettenboden	Cyrenenmergel	Nässe, schwerer Boden, mangelnde oder überflüssige Mineralbestandteile,	
11	Bubenheim	2	2	2	1	1	Kies und Letten	Cyrenenmergel	Nässe	
12	Budenheim	2	2	2	2	2	Mergel und Letten	Cyrenenmergel	Nässe	

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

13	**Büdesheim**	1	1	1	1	1	Ton und Letten	Septarienton	Nässe im Untergrund, nasses Hacken od. Hacken, dem kalte Regen folgen	
14	**Dexheim**	—	—	—	—	—	Ton und Letten	Septarienton, Cyrenenmergel	Wasseransammlung infolge undurchlassenden Bodens	
15	**Dienheim**	0	0	0	0	0	Letten	Cyrenenmergel		In den letzten 10 Jahren ist die Gelbsucht verschwunden, sehr wahrscheinlich durch Aufgraben und Einbringen von Kohlenschlacken zwischen den Zeilen
16	**Dolgesheim**	1	0	0	1	0	Letten und Kies	Cyrenenmergel, Septarienton	Wasser und undurchlässiger Untergrund	
17	**Dorn-Dürkheim**	2	2	1	1	0	Sandiger Lehm und Letten	Löß, Septarienton	Stagnierendes Wasser im Untergrund	Meist in tiefen Lagen
18	**Dromersheim**	—	2	—	—	—	Letten	Cyrenenmergel	Kaltes und nasses Frühjahr	
19	**Ebersheim**	1	1	3	2	1	—	—	Nasser Untergrund, naßkaltes Wetter	Den größten Erfolg hat die Verwendung von Steinkohlenschlacken in großen Mengen gehabt
20	**Eichloch**	2	1	1	1	2	Letten, Mergel, Kies (Kalkstein)	Cyrenenmergel, Cerithienkalk	Stagnierendes Wasser, magerer Untergrund, undurchlässige Kiesschichten	
21	**Engelstadt**	1	1	1	2	0	Kalkhaltige Böden und Letten	Corbiculakalk, Cerithienkalk, Cyrenenmergel	Nässe, zu frühes Behacken	
22	**Ensheim**	2	2	2	2	2	Letten und Mergel	Cyrenenmergel, Cerithienkalk	Trockenheit	
23	**Flonheim**	0	2	3	0	2	Letten und Ton	Septarienton	Nasse Witterung, undurchlässiger Untergrund	
24	**Framersheim**	2	2	2	1	1	Letten	Cyrenenmergel	Trockene Witterung	
25	**Freilaubersheim**	—	—	—	—	—	Letten	Cyrenenmergel		Die Krankheit trat hauptsächlich im Vorsommer auf
26	**Friesenheim**	1	1	1	0	0	Lehm	Löß	Stauwasser	Die Weinberge der Gemarkung sind fast sämtlich drainiert, die vereinzelten gelben Stellen kommen daher, weil die Röhrenstränge nicht bis direkt in den Lehmboden gelegt sind

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Lfd. No.	Gemarkung	Stärke d. Auftretens der Krankheit					Bodenarten, in denen Chlorose beobachtet wurde		Vermeintliche Ursachen	Bemerkungen
		1901	1902	1903	1904	1905	Landläufige Bezeichnung	Geologische Bezeichnung		
27	Gau-Algesheim	2	2	2	1	1	Letten, sandiger Lehm	Cyrenenmergel, Löß	Ungünstige Bodenart, Nässe	Eisenvitriol blieb ohne Erfolg, Kohlenschlacken haben zum Teil gewirkt
28	Gau-Bickelheim	1	1	1	1	1	Mergel	Cyrenenmergel, Corbiculakalk	—	Vor 1901 war die Chlorose bedeutend stärker aufgetreten
29	Gau-Odernheim	1	2	3	3	1	Letten	Cyrenenmergel	Trockenheit	
30	Gau-Weinheim	0	1	1	0	0	Letten	Cyrenenmergel	Trockener Untergrund	
31	Groß-Winternheim	2	2	2	2	2	Letten und Kies		Nasser, undurchlassender Boden und Kalk	Beim Roden hat man an einer gelbsüchtigen Stelle Wasser angetroffen
32	Gundheim	—	1	—	—	—	Letten	Cyrenenmergel	Anhaltend nasse Witterung bei undurchlässigem Untergrund	
33	Guntersblum	3	2	1	1	0	Mergel und Letten	Cyrenenmergel	Nässe bei undurchlässiger Beschaffenheit des Bodens, nasses Hacken	Erfolg bei Drainage mit Steinkohlenschlacken
34	Hackenheim	—	—	—	2	1	Letten	Cyrenenmergel	Nässe	
35	Hahnheim	1	3	2	1	1	Letten und vorzugsweise Kalksteinboden	Septarienton	—	Untergraben von Kohlenschlacken hat sich als gutes Gegenmittel gezeigt
36	Harxheim	2	2	3	3	1	Letten u. schwarzer Lehmboden	Cyrenenmergel	Zu hoher Kalkgehalt, zu kurze Zwischenruhe	
37	Hechtsheim	2	2	1	0	0	Lehmboden	—	Kalter Boden	
38	Heidesheim	—	—	—	—	—	—	—	Stagnierendes Wasser	
39	Heimersheim	1	2	2	0	2	Mergel und Letten	Cerithienkalk, Cyrenenmergel	Kaltes Wetter, Bodenbearbeitung bei nasser Witterung, Terraineinsenkungen, die Stauwasser ansammeln	
40	Heppenheim a. d.W.			1	3	0	Lehm und Mergel		Kalte nasse Witterung im Vorsommer	

41	Hernsheim	2	2	2	1	1	Tonige, schwere Lehmböden	—	Rascher Temperatur- und Witterungswechsel im Sommer	Sylvaner und Gutedel leiden mehr als Riesling.
42	Horchheim	1	—	—	1	1	Letten	—	—	
43	Ippesheim	—	1	—	1	—	Lehmboden	—	—	Beim Nachgraben zeigten sich die Wurzeln weiß mit Kalk überzogen
44	Jugenheim	—	—	—	2	1	Kies und Mergel	Corbiculakalk	Kalkhaltiges Wasser	
45	Pfaffen-Schwabenheim	2	1	1	1	1	Ton und Letten	Septarienton, Cyrenenmergel	Bodennässe	
46	Kastel	1	1	1	1	1	Kies	—	—	
47	Klein-Winternheim	1	2	0	0	0	1902 bei Jungfeldern in allen Bodenarten	—	Anhaltender Regen	
48	Kostheim	2	1	3	3	2	Kies, Sand, weiße Erde	—	Schlechte Bodenbeschaffenheit, schlechtes Bauen	
49	Kriegsheim	—	—	—	—	—	—	—	Nässe	In den letzten 5 Jahren nicht beobachtet, tritt nur in sehr nassen Jahrgängen auf
50	Mettenheim	2	2	2	2	2	Letten und Lehm	—	Wurzelerkrankung, Mangel an Eisen, Undurchlässigkeit des Bodens	Durch Eisenvitriol wurden in den letzten Jahren günstige Resultate erzielt
51	Mölsheim	—	—	—	—	—	Letten, Mergel und Sand mit Mergel vermischt	—	Naßkaltes Wetter	Im letzten Jahre infolge des trockenen Wetters weniger bemerkbar
52	Mommenheim	—	3	2	1	1	Letten	Cyrenenmergel	Wasserüberschuß	Schlackendrainage in Verbindung mit Düngung und Eisenvitriol war von sehr guter Wirkung
53	Nieder-Flörsheim	1	1	1	1	1	Letten	Cyrenenmergel	Untergrundwasser, Wassergallen	
54	Nieder-Hilbersheim	3	3	3	1	1	Ton	Cyrenenmergel	Nässe des Boden	Der Untergrund der Böden, in denen Gelbsucht beobachtet wird, besteht aus einem weißen, armen Boden, sog. Hundsletten
55	Nieder-Ingelheim	1	—	1	—	1	Tonmergel	Cyrenenmergel	Anhaltende Nässe, Kalknester	
56	Nieder-Saulheim	1	1	1	1	1	Kies, bei schwerem Boden in Mulden	Cyrenenmergel	Nässe	

Lfd. No.	Gemarkung	Stärke d. Auftretens der Krankheit					Bodenarten, in denen Chlorose beobachtet wurde		Vermeintliche Ursache	Bemerkungen
		1901	1902	1903	1904	1905	Landläufige Bezeichnung	Geologische Bezeichnung		
57	Nierstein	—	—	—	—	—	In schweren Böden	Septarienton	Hacken bei Regenwetter oder allzugroßer Trockenheit	
58	Ober-Olm	2	1	0	0	0	Kies und Ton	Septarienton, Cyrenenmergel	Undurchlass. Untergrund, zu schwache Ernährung	
59	Ober-Saulheim	—	2	2	0	0	Letten	Cyrenenmergel	Nässe	
60	Ockenheim	—	3	2	3	1	Ton und Letten	Septarienton, Cyrenenmergel	Wasser im Untergrund, Wurzelfäule, zu viel Kalk	
61	Oppenheim	—	—	—	—	—	Letten	Cyrenenmergel, Septarienton	Stagnierendes Wasser, ungenügende Bodenbearbeitung	Vor etwa 10—15 Jahren war Gelbsucht stark vorhanden, Kohlenschlacken sind mit sehr gutem Erfolg angewandt worden
62	Osthofen	—	—	—	—	—	Ton und Letten	—	Zu schwerer Boden	Wurde in den früheren nassen Jahren mehr beobachtet
63	Partenheim	—	2	2	1	1	Mergel	Cyrenenmergel, Corbiculakalk	Kalk, Luftabschluß der Wurzeln durch Regenwetter	
64	Planig	3	2	2	1	0	In Mulden mit Lettenboden	Septarienton	Nässe	
65	St. Johann	3	2	2	1	1	Mergel und Ton	Cyrenenmergel, Septarienton, Cerithienkalk	Kalk, Nässe	
66	Schornsheim	—	—	—	—	—	Letten	Cyrenenmergel	Nässe	Am unteren Ende einiger Weinberge staut sich das Wasser in einer Lettenschicht
67	Schwabenheim a. d. S.	—	3	—	1	0	Letten (Hundsletten)	Cyrenenmergel	Nässe, Hacken bei kühler, regnerischer Witterung	
68	Selzen	1	2	1	2	2	Lettenböden	Cyrenenmergel	—	Kommt in Sand- und Lehmböden nie vor
69	Sörgenloch	1	1	0	1	2	Kies und Lehm	—	Trockenheit	

						sächlich Letten	Cyrenenmergel	Witterung	Die Weinberge zeigten im Jahre 1905 am wenigsten Gelbsucht innerhalb eines Zeitraumes von 10 Jahren
71	Sprendlingen	2	2	3	3	1	Ton und Letten	Septarienton, Cyrenenmergel	Nässe	
72	Stadecken	2	3	1	2	1	Letten	Cyrenenmergel	—	1901 u. 1904 auch in anderen Bodenarten, doch in Letten am meisten
73	Steinbockenheim	—	1	2	2	2	Sandiger Lehm	—	Nässe	Gelbsucht ist jedes Jahr am unteren Ende des Hanges, wo sich das Wasser sammelt
74	Sulzheim	3	2	1	2	1	Letten	Cyrenenmergel	Anhaltende Trockenheit	
75	Undenheim	1	1	1	1	1	Lehmiger Ton	Cyrenenmergel	Nässe	In den letzten trockenen Jahren hat sich die Gelbsucht sehr vermindert
76	Uffhofen	—	1	2	0	0	Letten	Septarienton	Nässe	
77	Vendersheim	3	2	1	0	0	Letten und Mergel	Cyrenenmergel	Trockenheit	1901 auch im sandigen Lehmboden
78	Volxheim	1	2	1	0	0	Letten	Septarienton, Cyrenenmergel	Nässe	
79	Wald-Uelversheim	2	2	1	1	1	Toniger Mergel	Cyrenenmergel	Undurchdringlicher Untergrund	
80	Wallertheim	3	3	1	1	1	Ton und Lehm	Septarienton	—	1901 wurde im Tonboden Schlackendrainage angewandt, die guten Erfolg gab
81	Weinoldsheim	2	2	3	3	0	Letten und Kies mit Lettenuntergrund	Septarienton, Cyrenenmergel	Nässe	
82	Weisenau	1	1	1	1	1	Mergel und Lehm	—	Nasse Witterung	
83	Welgesheim	—	—	2	1	0	Letten	Cyrenenmergel	—	
84	Westhofen	—	—	—	—	—	—	—	Undurchlassender Untergrund, zu viel Kalk	Beim Aufgraben von gelbsüchtigen Stöcken findet man Absterben und Verschwinden der Stöcke
85	Wolfsheim	2	3	—	2	2	Letten und Sand	Cyrenenmergel	Trockenheit	
86	Wöllstein	2	2	2	1	1	Lehm, Mergel und Letten	Septarienton, Cyrenenmergel	Nässe	
87	Wörrstadt	2	2	2	2	1	Kies	—	Mangelhafte Ernährung infolge großer Trockenheit	
88	Zornheim	3	3	3	1	1	Letten und Mergel	Cyrenenmergel	—	

Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

das Wachstum der Rebe vollkommen abgeschlossen, und es beginnt die herbstliche Verfärbung der Blätter und teilweise schon der Laubfall. Andernteils tragen aber die Regen in diesem Monate schon ganz erheblich zur Ansammlung der sogenannten Winterfeuchtigkeit im Boden bei und kommen so für die Vegetationsperiode des folgenden Jahres in Wirkung.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten von Leuchtbakterien bei der Einwirkung von Agglutinationsserum und anästhesierenden chemischen Agentien,

nebst Bemerkungen über Pflanzennarkose.

[Aus dem hygienischen Institut der k. k. Universität in Innsbruck (Vorstand: Prof. Dr. A. Lode).]

Von Privatdozent Dr. **Franz Ballner,** k. u. k. Regimentsarzt.

Die Lichtentwickelung durch lebende Organismen ist seit dem Bekanntwerden dieser interessanten Erscheinung vielfach Gegenstand eingehender Studien gewesen. In neuerer Zeit hat sich namentlich Molisch[1]) mit diesem Phänomen befaßt und interessante Ergebnisse über das Wesen und die Eigenschaften dieses Lichtes mitgeteilt. Man kennt heute seine spektrale Zusammensetzung, seine Wirkung auf die photographische Platte, sowie auch eine physiologische Eigenschaft desselben, nämlich die Fähigkeit, bei zahlreichen Pflanzen Heliotropismus hervorzurufen.

Es sind bereits gegen 30 verschiedene Bakterienarten beschrieben worden, die unter gewissen Bedingungen selbständig zu leuchten vermögen. Von diesen sollen nur die leuchtenden Vibrionenarten Erwähnung finden, weil sie mit der Richtung und dem Zweck unserer Untersuchungen in engerem Zusammenhange stehen. Wir verwendeten für unsere Versuche dieselben Stämme von leuchtenden Wasservibrionen (Vibrio Rumpel T.B.C., Vibrio Rumpel 93, Vibrio Rumpel 94. Vibrio Stepan), die Lode[2]) bei Versuchen zur Messung der Lichtstärke von Leuchtbakterienkulturen benutzt hat.

Diese Leuchtvibrionen sind für Versuchstiere pathogen, und es gelingt durch Immunisierung von Kaninchen mit diesen Stämmen, ein spezifisches Immunserum zu erzeugen, das die Vibrionen auch in hohen Verdünnungen zu agglutinieren vermag. Der erste Teil unserer Untersuchungen befaßte sich mit der Frage, wie sich agglutinierte Vibrionen in bezug auf ihre Leuchtkraft verhalten. Die Feststellung dieses Verhaltens hat nämlich von dem Gesichtspunkte aus ein besonderes Interesse, weil dadurch gewissermaßen durch eine biologische Methode die allerdings bereits allgemein anerkannte Tatsache nachgewiesen werden konnte, daß durch die Agglutination keine wesentliche Schädigung der Mikroorganismen herbeigeführt wird. Ursprünglich faßte man wohl die Agglutinine als bakterienschädigende Schutzstoffe auf und schrieb ihnen eine Bedeutung für das Zustandekommen der Immunität zu. Spätere

1) Molisch, Leuchtende Pflanzen. Jena (G. Fischer) 1904.
2) Lode, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 524.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersuchungen allerdings haben unzweifelhaft gelehrt, daß die Agglutinine von den Bakteriolysinen streng zu trennen seien und keine Schädigung der Mikroorganismen zu erzeugen vermögen. Schon Gruber[1]) hat angegeben, daß in den agglutinierten Proben die Bakterien alsbald zu wachsen anfangen und sich darin üppig vermehren. Man kann sich übrigens durch Anlegung einer Kultur aus agglutinierten Bakterien jederzeit leicht überzeugen, daß die Keime vollständig lebensfähig geblieben sind, auch ihre Virulenz erleidet durch den Vorgang der Agglutination keine Einbuße.

Für die Durchführung unserer Versuche wurden 12-stündige, bei 37° C auf Agar gewachsene Kulturen der genannten Vibrionenstämme in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, so daß eine gut leuchtende Suspension entstand. Als agglutinierendes Immunserum verwendeten wir Kaninchenserum, das durch mehrtägiges Stehenlassen seiner bakteriziden Eigenschaften beraubt worden war. Mit der leuchtenden Suspension wurden Serumverdünnungen hergestellt und zu je 5 ccm in Eprouvetten verteilt. Neben mehreren Kontrollproben mit Aufschwemmung ohne Serumzusatz kamen folgende Serumverdünnungen zur Verwendung: 1 : 10, 1 : 50, 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 5000, 1 : 10000.

Die Röhrchen blieben zuerst 2 Stunden bei Zimmertemperatur, die übrige Zeit an einem kühlen Ort. Wurden dann die Proben im Dunkelzimmer beobachtet, so ließ sich zumeist an der Oberfläche der Aufschwemmung ein ca. 1/2 cm breiter leuchtender Ring wahrnehmen; unterhalb des letzteren erschien die Flüssigkeit nicht leuchtend, und erst nach mehrmaligem kräftigen Durchschütteln erhielt die gesamte Aufschwemmung eine gleichmäßige Leuchtkraft. Bei allen verwendeten Immunseris betrug der Agglutinationstiter 1 : 1000.

Das Resultat dieser Versuche lautete dahin, daß bei 2 der verwendeten Vibrio Rumpel-Stämme (Rumpel T.B.C. und Rumpel 94) sowohl die Kontrollen, wie auch die agglutinierten Proben bis zu 12 Tagen, die mit den 2 übrigen Stämmen angesetzten Röhrchen bis zu 10 Tagen ihre Leuchtkraft beibehielten. Die Leuchtkraft erlosch in allen Röhrchen gleichzeitig; ein Unterschied in der Leuchtfähigkeit der Kontrollen, der agglutinierten und nichtagglutinierten Proben war nicht wahrnehmbar, desgleichen zeigten auch die stärker und die schwächer agglutinierten Proben keine Differenzen.

Das Leuchten ist, wie auch Molisch annimmt, wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die lebende Zelle eine Substanz, das Photogen, erzeugt, das bei Gegenwart von freiem Sauerstoff zu leuchten vermag. Die Lichtentwickelung ist demnach eine Funktion des lebenden Protoplasmas und ist mit dem Leben der Zelle auf das engste verknüpft. Alles, was schädigend auf das Leben der Zelle einwirkt, schädigt auch die Leuchtkraft. Die Leuchtbakterien nun sind gegen die Einwirkung von schädigenden Agentien außerordentlich empfindlich. Schon Temperaturen, die an die obere Wachstumsgrenze heranreichen oder dieselbe nur um wenig überschreiten, wirken schädigend oder vernichtend auf die Leuchtkraft ein; ja wir konnten sogar die Wahrnehmung machen, daß die Aufschwemmungen von Bacterium phosphoreum (Cohn-Molisch[2])) in destilliertem Wasser bedeutend früher ihre Leuchtkraft

1) Gruber, Wien. klin. Wochenschr. 1896. p. 205.
2) Der entsprechende Stamm wurde uns von Herrn Prof. Molisch in Prag in dankenswerter Weise überlassen.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verloren, als die Aufschwemmungen derselben Kultur in physiologischer Kochsalzlösung.

Wenn nun bei unseren Versuchen in den agglutinierten Proben die Leuchtkraft sich gerade so lange erhielt wie in den nichtagglutinierten und Kontrollproben, so ist damit durch ein außerordentlich feines biologisches Reagens der Nachweis geliefert, daß die Agglutinationsreaktion keine nachweisbare Schädigung der agglutinierten Bakterien im Gefolge hat. In der Literatur fanden wir eigentlich nur eine einzige Angabe, welche die ursprüngliche Annahme einer Schädigung der Bakterien durch die Agglutination zu stützen versuchte. Trumpp[1]) versuchte nämlich nachzuweisen, daß die durch Cholera- und Typhusimmunserum agglutinierten Bakterien in weit höherem Maße als die nichtagglutinierten den bakteriziden Stoffen des normalen Serums unterliegen. Zu diesem Zwecke trug er Vibrionen in agglutinierendes, auf 60° C erhitztes Serum ein. Nach 1 Stunde, während welcher Zeit eine starke Agglutination der Mikrobien eingetreten war, setzte er zu den agglutinierten, sowie zu einer zweiten Probe von nichtagglutinierten Mikroorganismen die gleichen Mengen von frischem, normalem Meerschweinchenserum und verarbeitete beide Proben zu Gelatineplatten. Da die agglutinierten Bakterien eine stärkere Bakterizidie erkennen ließen als die unbeeinflußten, so schloß er daraus, daß die Agglutinine auch außerhalb des Tierkörpers schädigend auf die Bakterien einwirken. Diese Versuchsanordnung ist aber aus dem Grunde nicht ganz einwandsfrei, weil in den agglutinierten Proben der bakteriolytische Immunkörper vorhanden war, der durch den Zusatz von normalem Meerschweinchenserum frisches Komplement erhielt.

Der zweite Teil unserer Untersuchungen erstreckte sich auf die Ermittelung der Wirkung von anästhesierenden Mitteln, wie Aether und Chloroform, auf Leuchtbakterien. Die Dämpfe dieser Körper wirken auf die lebende Substanz als Gifte und erzeugen bei vorübergehender Einwirkung eine spezifische Schädigung gewisser Lebensfunktionen, bei dauernder Einwirkung aber bringen sie alle Lebenserscheinungen zu dauerndem Stillstand, und zwar in gleicher Weise bei den höher organisierten tierischen Organismen wie bei den Pflanzen und einzelligen Mikroorganismen.

Daß Pflanzen auf die Einwirkung von Aether- und Chloroformdämpfen ähnlich wie tierische Organismen reagieren, zeigt der bekannte, von Claude Bernard stammende Versuch mit der Mimosa pudica oder Sinnpflanze. Wird nämlich diese gegen Berührung und Erschütterung äußerst empfindliche Pflanze unter einer Glasglocke den Aether- oder Chloroformdämpfen ausgesetzt, so verliert sie in kurzer Zeit ihre Reizbarkeit; sie gerät in einen Zustand, der an die Narkose höherer Tiere erinnert. Ist der Versuch mit der nötigen Vorsicht angestellt worden, dann ist das Protoplasma der Pflanzenzellen nicht abgetötet, sondern es schwindet allmählich die „Narkose", bis die volle Reizbarkeit wiedergekehrt ist.

Aehnliche Verhältnisse wie bei der Mimosa pudica konnten wir bei den Blüten von Berberis vulgaris wahrnehmen. Die einschlägigen Beobachtungen mögen, wenngleich sie nicht unmittelbar zu

1) Trumpp, Archiv f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1898.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unserem Thema über Leuchtbakterien gehören, an dieser Stelle Erwähnung finden. Die Blüten von Berberis vulgaris sind dadurch ausgezeichnet, daß, wenn man die vom Griffel weit abstehenden Staubfäden am Grunde mit einer Nadel berührt, sich dieselben rasch gegen die Narbe bewegen. Läßt der Reiz nach, so stellt sich nach 2—3 Minuten die ursprüngliche Lage der Staubfäden wieder her. Werden die Blüten der Einwirkung von Aether- oder Chloroformdämpfen ausgesetzt, so verlieren sie nach ganz kurzer Zeit ihre Reaktionsfähigkeit. War die Expositionszeit nicht zu lange bemessen, so kehrt nach ca. 10—15 Minuten die Reizbarkeit in vollem Umfange wieder. Auch der umgekehrte Fall konnte beobachtet werden; wird die Blüte unmittelbar vor der Aetherwirkung gereizt und die Stellung des Anschlusses der Antheren an die Narbe erzeugt, ferner die Blüten in dieser Stellung den Aetherdämpfen exponiert, dann bleibt diese Reizstellung erhalten und löst sich erst dann, wenn die Einwirkung des Narkotikums nachläßt.

Wie bei der Mimosa pudica und der Berberis vulgaris, ist auch bei Leuchtbakterien eine Narkose durch Aether und Chloroformdämpfe zu erreichen. Wir konnten dies in besonders augenfälliger Weise dadurch zeigen, daß wir oberflächliche Kulturen von Leuchtvibrionen oder von Bact. phosphoreum (Cohn-Molisch), die in Petrischen Schalen enthalten waren, der Einwirkung von Aether- oder Chloroformdämpfen aussetzten. Die Leuchtkraft kam allmählich zum Schwinden, erlosch schließlich ganz und kehrte, wenn die Einwirkung der Dämpfe nicht zu lange andauerte, beim Schwenken der Platten an der Luft in wenigen Minuten vollständig wieder. Die Chloroformwirkung ist der Aetherwirkung in qualitativer Hinsicht gleich, doch ist erstere in bezug auf die Intensität stärker als die letztere. Es können also die anästhesierenden Mittel auf die Mikroorganismen ähnliche Wirkungen ausüben wie auf höher organisierte Wesen, indem gewisse Lebensäußerungen der Mikroben zum Stillstand gebracht werden, ohne daß das Leben selbst vernichtet wird.

Bekannt ist z. B. die Angabe, daß Chinin eine lähmende Wirkung auf Malariaplasmodien zu erzeugen vermag. In der Literatur findet sich auch verzeichnet, daß sich eine Anästhesierung von Bakterien durch Aether oder Chloroform durch Aenderung ihres chemotaktischen Verhaltens erkennen läßt[1]). Uebrigens hat schon Claude Bernard[2]) zu zeigen versucht, daß chemische Prozesse in der Zelle durch Anästhesieren eine Hemmung erfahren können. Er versetzte eine Zuckerlösung mit Aether oder Chloroform und fügte dann Bierhefe hinzu; es trat keine Gärung auch unter sonst günstigen Bedingungen ein. Wurden hierauf die Hefepilze abfiltriert, mit reinem Wasser ausgewaschen und in eine reine Zuckerlösung gebracht, so riefen sie in kurzer Zeit wieder Gärung hervor. Doch scheint es sich bei diesen Versuchen weniger um eine eigentliche Narkose, als vielmehr um eine Entwickelungshemmung durch die in geringen Konzentrationen angewendeten chemischen Substanzen gehandelt zu haben.

Durch keines dieser Experimente dürfte die Möglichkeit einer Narkose der niederen Organismen in so überzeugender und einwandsfreier Weise erbracht sein, als durch den Versuch mit den Leuchtbakterien.

---

1) Rothert, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. p. 38.
2) Claude Bernard, (IV. 1885) zit. nach Hertwig, Allg. Biologie. p. 161.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Daß hierbei nicht die Verdrängung von Sauerstoff durch die Aether- oder Chloroformdämpfe die Ursache des Verschwindens der Leuchtkraft bildet, sondern daß dieser Zustand mit einer Lähmung gewisser Lebensfunktionen in der Zelle in Zusammenhang steht, läßt sich leicht dadurch nachweisen, daß auch Aetherdämpfe gemischt mit Luft ein Verschwinden der Leuchtkraft erzeugen. Schon ganz geringe Spuren von Sauerstoff sind aber imstande, das Leuchten zu erhalten, wie aus dem von Beijerinck[1]) angegebenen Chlorophyllversuch hervorgeht. Außerdem konnten wir uns wiederholt überzeugen, daß in einer Atmosphäre von Wasserstoff und Kohlensäure, die nicht in sorgfältiger Weise von atmosphärischer Luft befreit ist, die Leuchtkraft oft stundenlang ohne wahrnehmbare Schwächung erhalten blieb. Wir erfuhren dies dadurch, daß wir die im Kippschen Apparate entwickelten Gase in passender Anordnung in große Bechergläser leiteten, in welchen die leuchtenden Kulturen enthalten waren. Es waren also in denselben neben dem irrespirablen Gase noch Spuren von Luft vorhanden, welche das Leuchten zu unterhalten vermochten.

1) Beijerinck, zit. nach Molisch, Leuchtende Pflanzen. p. 103.

Inhalt.

Ballner, Franz, Ueber das Verhalten von Leuchtbakterien bei der Einwirkung von Agglutinationsserum und anästhesierenden chemischen Agentien, p. 572.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Edamerkäsereifung, p. 526.

Bredig, G., Ueber die physiologische Katalyse, p. 485.

Ellis, David, A contribution to our knowledge of the thread-bacteria. (I.), p. 502.

Huss, Harald, Durch einen Micrococcus hervorgerufene Gelbbraunfärbung von Hartkäse, p. 518.

Kusano, S., On the cytology of Synchytrium, p. 538.

Molz, Emil, Untersuchungen über die Chlorose der Reben. (Forts.), p. 563.

Müller, Wilhelm, Zur Kenntnis der Euphorbia-bewohnenden Melampsoren. (Schluß), p. 544.

Nikitinsky, J., Die anaërobe Bindung des Wasserstoffes durch Mikroorganismen, p. 495.

Okazaki, K., Eine neue Aspergillus-Art und ihre praktische Anwendung, p. 481.

Petri, L., Untersuchungen über die Identität des Rotzbacillus des Oelbaumes, p. 531.

Probst, René, Versuche mit Kompositen-bewohnenden Puccinien, p. 543.

Stigell, R., Ueber die Einwirkung der Bakterien auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens, p. 499.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Abgeschlossen am 7. Oktober 1907.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 19|20.

Kongresse.

Nachdruck verboten.

Verhandlungen der VII. Sektion

„Land- und Forstwirtschaftlicher Pflanzenschutz (Pflanzenkrankheiten, Pflanzenschädlinge und deren Bekämpfung, Schutz nützlicher Tiere“) am VIII. internationalen landwirtschaftlichen Kongreß am 22. und 23. Mai 1907 in Wien.

1) Die Organisation des Pflanzenschutzes durch Schaffung geeigneter Maßnahmen und Durchführung internationaler Vereinbarungen in Pflanzenschutzangelegenheiten.

Zu dieser Frage liegt eine Reihe von Referaten vor, welche die Organisation des Pflanzenschutzes in verschiedenen Ländern betreffen. Diesbezüglich berichten: Eriksson (Stockholm), Aderhold (Berlin), Rostrup (Kopenhagen), Ritzema Bos (Wageningen), Moreschi (Rom), Kornauth (Wien), Müller-Thurgau (Wädenswil), Jablonowsky (Budapest), Jaczewski (St. Petersburg) und Marchal (Gembloux). Eriksson stellt am Schlusse seines Referates folgenden Antrag: „Der Kongreß erkennt die hervorragende wirtschaftliche Bedeutung des tatkräftigen internationalen Zusammenwirkens auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes an und ist der Ansicht, daß das internationale landwirtschaftliche Institut in Rom diese Frage in sein Programm aufzunehmen habe.“ Ueber diesen Antrag entspinnt sich eine längere Debatte, in welcher betont wird, daß das genannte Institut in Rom wenig für die Zwecke des Pflanzenschutzes zu leisten imstande sein werde; ferner wird die auf dem 1. internationalen landwirtschaftlichen Kongreß zu Wien 1890 gegründete internationale phytopathologische Kommission als eine nach den gemachten Erfahrungen nicht lebensfähige Institution erklärt, und der Vorschlag von Appel (Dahlem), eine neue derartige Kommission zu gründen, abgelehnt. Zum Schluß der Debatte wird der folgende Antrag von Ritzema Bos (Wageningen) angenommen: „Der Kongreß erkennt die hervorragende wirtschaftliche Bedeutung des tatkräftigen internationalen Zusammenwirkens auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes an und ist der Ansicht, daß das internationale landwirtschaftliche Institut zu Rom bei den betreffenden Regierungen zu dringen habe: 1) Auf die Einrichtung eines phytopathologischen Ueberwachungsdienstes in allen Kulturländern; die Bereitstellung der Geldmittel von seiten der Regierungen für die Teilnehmer bei Kongressen zur Beratung phytopathologischer Fragen ist anzustreben. 2) Auf die Errichtung phytopathologischer Institute in Kulturländern, überall, wo solche noch nicht existieren.“

Die Mitteilung von Cuboni (Rom), daß die italienische Regierung bereit sei, die vom Exekutivkomitee veröffentlichten Beschlüsse der Sektion VII allen Regierungen auf Kosten der italienischen Regierung mitzuteilen, wird von der Sektion mit Dank zur Kenntnis genommen.

2) Vorbeugung gegen Krankheiten der land- und forst-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wirtschaftlichen Kulturpflanzen durch Kulturmaßregeln und durch Berücksichtigung ihrer Widerstandsfähigkeit.

Referate liegen vor von Sorauer (Berlin) und Pammer (Wien). **Sorauer** begründete eingehend seine Ansichten über diese Frage und den, wie folgt, lautenden Antrag: „Der VIII. internationale landwirtschaftliche Kongreß in Wien erkennt die Notwendigkeit an, durch Vergleichung der in den einzelnen Kulturländern gemachten Erfahrungen die Witterungs-, Boden- und Kulturverhältnisse kennen zu lernen, welche die Ausbreitung der einzelnen Krankheiten zu beschränken vermögen und uns in den Stand setzen, vorbeugend eingreifen zu können." Dieser Antrag wird angenommen, sowie der Zusatzantrag Sorauers: „In Anbetracht, daß die Krankheiten, auch die parasitären, abhängig von gewissen Nebenumständen sind, wird ersucht, daß die Sektion eine bestimmte Frage der Prädisposition feststelle und daß die Beobachtungen über die Nebenumstände, unter welchen die einzelnen Krankheiten in den einzelnen Ländern auftreten, gesammelt und in ihren Resultaten durch die „Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten" veröffentlicht werden. Vorgeschlagen wird als erstes Objekt die Frage des Getreiderostes."

Pammer (Wien) stellt im Anschluß an sein Referat folgenden Antrag: „Die Individualzüchtung soll die weitgehendste Verbreitung und Verwendung in Zuchtbetrieben finden; nachdem jedoch ihre Anwendung einen größeren wissenschaftlichen Apparat erfordert, der den praktischen Landwirten zumeist nicht oder nur ausnahmsweise zur Verfügung steht, wäre von seiten des Staates dafür Sorge zu tragen, daß gut eingerichtete Saatzuchtanstalten, bezw. Versuchsstationen für Pflanzenkultur unter Mitwirkung der Pflanzenschutzstationen den saatzuchttreibenden Landwirten mit Rat und Tat, insbesondere durch Anleitung und Uebernahme der wissenschaftlichen Untersuchungsarbeiten an die Hand gehen und die züchterischen Bestrebungen der Landwirte, die einseitig oft nur auf hohe Ertragssteigerung abzielen, in der Folge dahin leiten, daß der möglichsten Widerstandsfähigkeit der Sorten volle und größere Beachtung geschenkt wird." Dieser Antrag wird angenommen.

Bénard (Paris) hält einen Vortrag über die Vertilgung der Maikäfer, welcher in der Resolution gipfelt: „Der Kongreß, welcher die ungeheuere Schädlichkeit der Maikäfer und Engerlinge anerkennt, stimmt der energischen Bekämpfung in allen Ländern zu, namentlich derjenigen der Maikäfer durch Einsammeln, infolge der geringen Kosten." Auch dieser Antrag wird angenommen.

Jaczewski (St. Petersburg) spricht unter Beibringung von Demonstrationsmaterial in Kürze über folgende Themen:

1) „Ueber das Perennieren der Aecidiumgeneration von Gymnosporangium tremelloides auf Aepfelbäumen" und 2) „Ueber Fusarium roseum L. und seine Ascusform". Was ersteres Thema anbetrifft, so erhielt Jaczewski im heurigen Frühjahre aus dem Kaukasus Aepfelzweige, welche auf den ersten Blick als vom Frost beschädigt erschienen. Bei genauerer Untersuchung zeigte die beschädigte Rinde kleine Oeffnungen und die mikroskopische Untersuchung ergab, daß diese Oeffnungen nichts anderes waren als Aecidien von Gymnosporangium tremelloides, dessen Mycelium sich üppig in der Rinde entwickelte und überwinterte; Pykniden waren nicht zu entdecken. Jaczewski erklärt sich diese Erscheinung dadurch, daß an bestimmten Stellen der Zweige wirklich zuerst Frostschäden auftraten und daß sich in dem erneuerten Gewebe wahrscheinlich zu-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fällig Sporen des genannten Pilzes ansiedelten, welche hier eine passende Ernährung fanden und ein Mycel entwickelten. Im vorliegenden Falle hat sich das Perennieren schon eingebürgert, da diese Krankheit der Aepfelzweige im Kaukasus bereits seit einigen Jahren bekannt ist, und in manchen Fällen sogar das Absterben der Bäume bewirkt. Im Jahre 1904, bekannt als sehr regnerisch, trat im ganzen nördlichen Rußland besonders heftig die Erscheinung des Taumelgetreides auf. Nach dem Genusse des Taumelroggens zeigten sich ganz allgemein Krankheitserscheinungen (Unfähigkeit zu jeder Arbeitsleistung während ungefähr 24 Stunden), und zahlreiche Untersuchungen Jaczewskis ergaben, daß daran ausschließlich der Pilz Fusarium roseum Link Schuld trug. Nach der Untersuchung von Tobeilowitsch ergab sich, daß dieser Pilz durch Zersetzung der Albuminstoffe der Körner ein Glukosid aus der Gruppe der Toxine entwickelt, welches die Wirkung des Taumelns verursacht. Jaczewski hat sich weiter mit der Entwickelung des Pilzes beschäftigt und gibt diesbezüglich einige Mitteilungen.

3) Tierarten, welche sowohl für die Landwirtschaft, als auch für die Forstwirtschaft in Betracht kommen, und Vereinbarungen zum Schutze und zur Bekämpfung derselben.

Referate zu dieser Frage liegen vor von Eckstein (Eberswalde) und Sedlaczek (Mariabrunn). Nach einer längeren Debatte werden verschiedene Abänderungsanträge zu dem Antrag Eckstein gestellt und derselbe, nach Zustimmung des Referenten, in folgender Fassung angenommen: „1) Nur wenige Tiere sind absolute Schädlinge der Land- und Forstwirtschaft zugleich, nämlich Mäuse, Maikäfer, Elateren und andere Insekten. 2) Allgemeiner, streng durchgeführter Schutz ist allen Tieren, zumeist den Vögeln, angedeihen zu lassen, solange ihnen nicht in besonderen Fällen ein schädliches Tun nachgewiesen ist. 3) Bei allen ist der Nutzen und Schaden sorgfältig abzuwägen und je nach den obwaltenden Verhältnissen denselben Tieren Einschränkungen und Vernichtung oder mehr oder minder weitgehender Schutz angedeihen zu lassen. Der Schutz der nicht schädlichen Tiere, der Kampf gegen Schädlinge muß erfolgen durch: a) umfassende Anwendung bewährter Gegenmittel bei sorgfältiger Ausführung der Maßregeln; b) Aufklärung, Belehrung, Beispiel und Rat; c) polizeiliche Verordnung und staatliche Gesetzgebung, soweit sie Aussicht auf erfolgreiche Durchführung haben; d) Vereinbarung benachbarter Verwaltungsbezirke in demselben Staat oder in Grenzgebieten benachbarter Staaten, um durch gemeinsames Vorgehen einen Ersatz für zweckmäßig befundene Maßregeln zu gewährleisten; e) internationale Abmachungen."

Berlese (Florenz) legt ein Referat vor „Ueber die neueren Versuche zur Bekämpfung der Oelfliege (Dacus oleae)", welches, da Referent nicht anwesend ist, zur Kenntnis genommen wird. Berlese berichtet hier über seine Bespritzungsversuche in drei Olivenwäldern mit einer „Oelfliegentod" genannten Mischung, welche De Cillis bereitet hat und folgende Zusammensetzung besitzt: 65 Proz. Melasse, 31 Proz. Honig, 2 Proz. Glycerin und 2 Proz. arsensaures Natrium. Die Bespritzungsversuche haben ein sehr befriedigendes Resultat ergeben, da der Geschmack der Mischung den Fliegen sehr zusagt. Eine Vergiftung der Oliven durch das arsensaure Natrium ist nicht zu befürchten. Die Mischung kann auch für die Bekämpfung der Ceratilis capitata

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wied. und der Rhagoletis Cerasi L., welche in vielen Gegenden die Apfelsinen und das Obst beschädigen, von guter Wirkung sein.

4) Die internationale Bedeutung des Vogelschutzes für den Pflanzenschutz.

Nach der Begründung der vorgelegten Referate seitens der Referenten **Rörig** (Berlin) und **Holland** (Wien) entspinnt sich eine rege Debatte, in welcher die seitens verschiedener Redner zum Ausdruck gebrachten Anschauungen sich mitunter in schroffer Weise gegenüberstanden. Bemerkenswert erscheint die Mitteilung von **Howard** (Washington), nach welcher in den Vereinigten Staaten von Nordamerika sich schon seit 15 Jahren die Biologen mit der Nützlichkeit oder Schädlichkeit der Vögel beschäftigen und trotz vieler tausender Untersuchungen noch zu keinem bestimmten Resultate gelangt sind; man will nun die Sache in der Weise anpacken, daß man nützliche ausländische Insekten einführt und auf diese Weise hofft, die Schädlinge so besser bekämpfen zu können, als durch den Schutz nützlicher Vögel. Weiter hielt Freiherr **von Berlepsch** (Cassel) einen Vortrag über „Die Bedeutung des Vogelschutzes für die Land- und Forstwirtschaft und seine rationelle Durchführung“, in welchem er insbesondere empfiehlt: die Schaffung von Nistgelegenheiten für Höhlenbrüter und Freibrüter, Anlagen von Schutzgehölzen für Freibrüter, Winterfütterung und Schutz der Vögel gegen deren Feinde. Mehrn (Kopenhagen) spricht sodann über den Vogelschutz in Dänemark. Schließlich wurden die folgenden Anträge Rörigs und Hollands angenommen:

Antrag Rörig: „Der VIII. internationale landwirtschaftliche Kongreß erachtet es für wünschenswert, daß in allen Kulturländern Mittel bereit gestellt werden, um das Studium und die Erforschung der wirtschaftlichen Bedeutung der Vögel zu fördern und die Ergebnisse in gemeinverständlicher Form möglichst weit zu verbreiten.“

Antrag Holland: „Der VIII. internationale landwirtschaftliche Kongreß in Wien hält es für geboten, daß von seiten der land- und forstwirtschaftlichen Kreise der einzelnen Staaten und Länder mit Rücksicht auf den eminenten Nutzen der Vogelwelt für die Land- und Forstkultur allenthalben die Schaffung von Vogelschutzgesetzen angestrebt werde, welche insbesondere auch den Fang der nützlichen Vögel und den Handel mit denselben, als eine wesentliche Mitursache der für den Pflanzenschutz gefährlichen Abnahme der nützlichen Vogelwelt unbedingt und zu jeder Zeit verbieten und lediglich einzelne vorübergehende Ausnahmen hiervon, so insbesondere den Fang zum Zwecke wissenschaftlicher Forschung und die Vernichtung lokal schädlich werdender Vogelarten, gestatten.“

Das gedruckt vorliegende Referat von A. Dubois (Brüssel): „Pour la protection des oiseaux insectivores“ wird zur Kenntnis genommen.

5) Fachwissenschaftliche Kontrolle der in den Handel gelangenden Pflanzenschutzmittel, sowie gesetzliche Vorschriften über den Handel mit ihnen.

Hollrung (Halle a. S.) führt aus, daß die Phytopathologie, deren Konstituierung als selbständiges Forschungsgebiet sich im verflossenen Jahrhundert vollzogen hat, auf drei grundlegenden Disziplinen ruht: der Symptomatik, der Aetiologie und der Therapie. Konform der Humanmedizin sprechen mehrere Gründe dafür, auch der Pflanzentherapie festere Grundlagen zu geben. 1) Die Pflanze ist berechtigt, an die Heilmittel, welche bei ihr zur Anwendung gebracht werden, die nämlichen An-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

forderungen zu stellen wie Mensch und Tier. 2) Ein Heilmittel kann seinen Zweck nur erfüllen, wenn es die ihm zukommenden speziellen Eigenschaften in dem von der Wissenschaft festgesetzten Umfange besitzt. Von diesem Gesichtspunkte aus ist daran zu erinnern: a) daß die besonderen Eigenschaften, welche die einzelnen Bekämpfungsmittel besitzen müssen, im allgemeingültigen Sinne gegenwärtig noch nicht festgelegt sind; b) daß noch ebensolche Unsicherheiten bezüglich der Methoden herrschen, welche zur einwandfreien Feststellung dieser Eigenschaften dienen sollen; c) daß es noch an den nötigen Garantien fehlt, welche den Landwirt davor schützen, daß ihm minderwertige oder auch nachteilig wirkende Stoffe für pflanzentherapeutische Zwecke verabreicht werden; d) daß die Herstellung und der Vertrieb von Pflanzenschutzgeheimmitteln einen im Interesse der guten Sache unerwünscht großen Umfang angenommen hat. Als Beispiele für die vorgenannten Fälle können dienen: der Mangel von Bestimmungen über den zulässigen Gehalt des Schweinfurter Grüns an arseniger Säure, die Unsicherheit in der Bestimmung des Feinheitsgrades des Schwefels, das durch einen Zusatz von Eisenvitriol verfälschte Kupfervitriol, Formalin mit einem Mindergehalt an Formaldehyd, rhodanhaltiges Gaswasser u. s. w.

Auf Grund seiner Ausführungen stellt Hollrung folgenden Antrag: „Die Phytopathologie wird durch Mißerfolge, welche auf nicht autorisierte Vorschriften oder unvorschriftsmäßige Materialien zurückzuführen sind, diskreditiert. Zur Beseitigung aller dieser Uebelstände empfiehlt sich: 1) die Ausarbeitung allgemein brauchbarer Vorschriften a) über die Beschaffenheit der zu verwendenden Rohmaterialien, b) über die Art ihrer Gehalts-, bezw. Beschaffenheitsprüfung. 2) Die Aufstellung allgemein brauchbarer Rezepte. 3) Die Beratung dieser Vorschriften und Methoden auf dem nächsten internationalen landwirtschaftlichen Kongreß.“ Der Antrag wird angenommen.

Reisch (Klosterneuburg) bespricht die durch den Handel mit Geheimmitteln bedingten Schädigungen, sowie die zur Unterdrückung der schwindelhaften Geheimmittel notwendigen Maßnahmen und legt folgenden, bei der Abstimmung angenommenen, Antrag vor: „Zur Beseitigung der Mißstände im Handel mit Pflanzenschutzmitteln empfiehlt sich: 1) Die Erlassung gesetzlicher oder administrativer Vorschriften, durch welche die Ankündigung und der Vertrieb von Pflanzenschutzmitteln ohne Angabe ihrer Zusammensetzung oder ihrer Herkunft verboten ist. 2) Die Ausgestaltung der Organisation und des Wirkungskreises der Pflanzenschutzstationen in der Weise, daß die Kenntnis der geeigneten Bekämpfungsverfahren und der hierzu zu verwendenden Mittel eine immer allgemeinere werde.“

6) Die internationale Bedeutung der Nematodenfrage.

Ritzema Bos (Wageningen) bespricht die Frage, unter Ausscheidung der in den Tropen lebenden Arten, von dem Standpunkte aus, welche internationale Bedeutung die in den Pflanzen parasitierenden Nematoden haben oder bekommen können, wobei er zu dem folgenden Resultate kommt: Heterodera Schachtii und Tylenchus Hordei haben keine internationale Bedeutung, weil sie an den von ihnen bewohnten Boden gebunden sind und nur auf geringen Distanzen, mittels landwirtschaftlicher Geräte, Schuhe, Pferdehufe u. s. w., sowie durch den Regen verbreitet werden können. Heterodera radicicola ist wohl überall in den gemäßigten, subtropischen und tropischen Zonen der ganzen Welt heimisch, kann also durch kein Einfuhrverbot mehr in ihrer

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verbreitung gehemmt werden. **Aphelenchus Fragariae** und **A. Ormerodis** treten bloß gelegentlich und wahrscheinlich ausschließlich im nördlichen Europa als Pflanzenparasiten auf; sie haben fast keine internationale Bedeutung und dürften keinen Anlaß geben zu Bestimmungen, die den Weltverkehr hindern. Ebensowenig dürfte solches der Fall sein mit **Tylenchus devastatrix**, weil dieser Parasit bloß ausnahmsweise eine geringe internationale Bedeutung haben kann. **Aphelenchus olesistus** kann sehr leicht mit Topfpflanzen, gelegentlich auch mit Freilandpflanzen, in aller Herren Länder importiert werden; wenn aber die Blumenzüchter u. s. w. die von ihnen aus anderen Ländern gekauften Pflanzen nicht sogleich ihren eigenen Kollektionen einverleiben, sondern dieselben vorher einige Zeit in Quarantäne und in fortwährender Beobachtung halten, so können sie dem Uebel der Verbreitung der Aelchenkrankheit, sowie anderer Krankheiten vorbeugen. Auch die regelmäßige Ausübung eines phytopathologischen Dienstes, wie ein solcher in Holland[1]) durchgeführt wird, kann mehr als das Verbot der Einfuhr gewisser Pflanzen aus gewissen Ländern der dauernden Invasion fremdländischer Pflanzenfeinde vorbeugen. Der Verbreitung von **Tylenchus scandens** sollte durch Untersuchung der Weizen- und Grassamen, sowie der als Futtermittel verhandelten Abfälle in den Versuchsstationen vorgebeugt werden. Nach der Ansicht des Referenten bringen Einfuhrverbotgesetze einen so großen Nachteil für den Handel, sowie für die Pflanzenzucht, daß sie den teilweise überdies noch illusorischen Vorteil in betreff der Verhinderung der Verbreitung von Schädlingen nicht aufwiegen.

Die vorstehenden Schlüsse von **Ritzema Bos** über die internationale Bedeutung der Nematodenfrage werden auf seinen Wunsch von der Versammlung zustimmend zur Kenntnis genommen.

Spiegler (Doloplass) erörtert eingehend die Erfahrungen, welche er hinsichtlich der Rübennematoden und ihrer Bekämpfung während seiner Praxis, speziell bei Zuckerfabriksökonomien, gesammelt hat. Die Fangpflanzenmethode von **Kühn** hat er, trotz kolossaler Erfolge, aufgegeben, da sie ein zweischneidiges Schwert ist, außerdem zu teuer kommt, viel Zeit, viel Bezugskraft, größte Aufmerksamkeit und vor allem reichliche Erfahrung fordert. Gaswasser, Gaskalk, Sublimat und andere ätzende Mittel haben sich absolut nicht zur Vernichtung der Nematoden bewährt. Die Verwendung von Schwefelkohlenstoff erscheint der hohen Kosten wegen für die Praxis vorläufig ausgeschlossen. Referent ist nun in der Weise vorgegangen, daß er versucht hat, dem Parasiten die günstigsten Lebensbedingungen zu seiner Vermehrung zu entziehen und weiterhin seine Weiterverbreitung verhindert und jedwede Verschleppung hintangehalten hat. Total verseuchte Rübenfelder sind auf 6—7 Jahre vom Rübenbau auszuschließen und nur mit solchen Pflanzen zu bebauen, welche der Entwickelung der Nematoden nicht förderlich sind (Cerealien mit Ausnahme von Hafer, Klee, diverse Gräser, Esparsette, Pferdebohne, Speisebohne, Mohn, Kümmel, Zwiebel, Mais, Kartoffel und Mischling ohne Beimengung von Hafer). Durch Nematoden teilweise

---

1) Nach der Mitteilung von **Ritzema Bos** in seinem Referate zur Frage: „Die Organisation des Pflanzenschutzes etc." ist seit 1899 in Holland zum Zwecke des Pflanzenschutzes ein phytopathologischer Ueberwachungsdienst organisiert, dessen Chef gegenwärtig er ist. Es werden von ihm und den Beamten seines Institutes womöglich alle Handelsgärtnereien, Baumschulen, Obstbaumgärten, Blumenzüchtereien und Blumenzwiebelfelder in Holland inspiziert; auch die Wanderlehrer für Landwirtschaft und Gartenbau können jeder für seinen Distrikt von dem Chef des phytopathologischen Ueberwachungsdienstes für diese Inspektionen als Mitarbeiter herangezogen werden.

Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

infizierte Felder dürfen nur jedes 4., eventuell 5. Jahr zum Rübenbau herangezogen werden und ist die Fruchtfolge derart einzuteilen, daß zwischen Ceralien ein- bis zweimal als Zwischenfrüchte Klee, Pferdebohnen oder Mischling zum Anbau kommen. Bei nesterweisem Auftreten der Nematoden sind die befallenen Pflanzen samt Nebenwurzeln zu entfernen, der Fleck ist durch einen 30 cm tiefen, engen Graben, dessen Sohle mit Aetzkalk bestreut wird, von der gesunden Rübe zu isolieren, die leere Stelle wird stark mit Aetzkalk bestreut und umgestochen und schließlich mit Schwefelkohlenstoff behandelt. (In 20 cm tiefe Löcher im 25 cm-Verband werden 200 g Schwefelkohlenstoff eingegossen und die Löcher festgetreten.) Felder mit nesterhaftem Auftreten von Nematoden, sowie solche Felder, welche von dem Schädling bisher noch verschont geblieben sind, müssen in eine geregelte Fruchtfolge eingereiht werden (mit je einer Zwischenfrucht von Klee, Leguminosen etc. erst im 3. oder 4. Jahr Rübenbau), damit sie rübenkräftig erhalten bleiben. Ferner ist es nicht ratsam, eine Tiefackerung vorzunehmen, da eine Ackerung von 24—28 cm vollkommen für die Vorbereitung eines Rübenfeldes genügt. Schließlich ist auch eine Verschleppung der Nematoden durch Erde, Gespann- und Ackergeräte, Menschen, Pferde etc. peinlichst hintanzuhalten. Referent stellt zum Schluß folgenden Antrag: „1) Der VIII. internationale landwirtschaftliche Kongreß beschließt, sämtliche Rübenbau treibende Landwirte, deren Felder bisher von Rübennematoden verschont geblieben sind, auf die Gefahren dieses schädlichen Parasiten aufmerksam zu machen. 2) Jene Landwirte, welche ihre Felder bereits verseucht haben, sollen dahin belehrt werden, der Vermehrung der Schädlinge durch vernünftige Fruchtfolge entgegenzuwirken. 3) Die Ackerbauministerien mögen mit Rücksicht auf die Finanzlage der Staaten bemüht sein, an jeder Pflanzenschutzstation eine spezielle Abteilung für Nematodenschutz zu errichten und den Beamten die Mittel dazu geben, die im Laboratorium gemachten Versuche im Verein mit den praktischen Landwirten auf dem Felde fortzusetzen und das Ergebnis dieser Versuche in Fachzeitschriften zu veröffentlichen.“ Dieser Antrag wird angenommen.

H. Nilson-Ehle (Svalöf) teilt schriftlich mit, daß in Schweden gemachte Untersuchungen, die in Dänemark schon vorher gewonnene Erfahrung bestätigten, daß es eine Form von Heterodera Schachtii gibt, welche die Getreidearten (besonders Hafer), aber nicht die Rüben angreift. Diese Form schmarotzt sowohl auf Hafer, Weizen, Gerste, Roggen, wie auch, obwohl in geringerem Maße, auf verschiedenen Grasarten und ist in den südlichen Provinzen Schwedens sehr verbreitet, während die Zuckerrüben bis jetzt dort nur in vereinzelten Fällen und zwar in Wirtschaften, wo Rüben schon lange und oft in der Fruchtfolge gebaut worden sind, angegriffen wurden. Eine verschiedene Empfänglichkeit bei verschiedenen Sorten hat Nilson-Ehle bei Hafer und Weizen bis jetzt nicht konstatieren können, dagegen scheint eine solche bei Gerste zu bestehen. Die angebaute vierzeilige Gerste wird relativ stark angegriffen, und auch bei der zweizeiligen Gerste werden gewisse Sorten entschieden mehr befallen als andere. Wenn man einen nachfolgenden Hafer als Indikator benutzt, so kann derselbe sogar viel höhere Erträge nach gewissen Gerstensorten geben wie nach anderen, wie besondere Versuche dargetan haben. Stift (Wien).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation in Berlin.

Lebedeff, S., Zur Wirkung von Oxalsäure auf Brauerei- und Preßhefe[1]).

Bei den Versuchen, welche Verf. mit zwei untergärigen Bierhefen und zwei Preßhefen anstellte, handelte es sich um Feststellung der Art des Einflusses, welchen die als oxalsaurer Kalk oft in bedeutender Menge zwischen der Hefe vorkommende Oxalsäure auf die Gärkraft und die Triebkraft dieser Organismen ausübt. Die Versuche erstreckten sich auf reine Oxalsäure und oxalsauren Kalk und die Einwirkung dieser Stoffe auf Hefe in Rohrzuckerlösung und auf Hefe in Würze. Ferner wurde der Einfluß der Oxalsäure auf die Gär- und Triebkraft der Hefe bei Gegenwart von Gips oder Asparagin und endlich die Einwirkung der Oxalsäure auf die Zymase (Oxalsäure in Hefepreßsaft) geprüft.

Es ergab sich, daß Oxalsäure schon in Mengen von 0,001 Proz. in Zuckerlösung eine schädliche, bei 0,1 bis 0,2 Proz. eine tötende Wirkung ausübt. Hefe in Würze wird durch sehr geringe Mengen (bis 0,05 Proz.) Oxalsäure angeregt, in größeren Mengen schädigt letztere die Hefe und sie wirkt bei Gegenwart von 0,4—0,5 Proz. tödlich. Oxalsaurer Kalk ist bei 0,25 Proz. für gärende Hefe weniger schädlich als freie Oxalsäure. Gips und Asparagin verringern die Schädlichkeit der Wirkung der Oxalsäure. Auf die Zymase im Hefepreßsaft hat die Oxalsäure bis 0,03 Proz. keinen Einfluß, höhere Gaben vernichten die Zymase.

Rommel (Berlin).

Wibiral, R., Infektionsgefahr durch Pferdestallungen in der Nähe von Kühlschiffen, insbesondere durch die Harnsarcina[2]).

Verf. isolierte aus Pferdeharn und aus der Luft des Pferdestalles einer Brauerei eine Anzahl von Sarcina-Organismen, die besonders in dem (stark alkalischen) Harn in großer Menge vorhanden sind. Diese Organismen sind relativ leicht anpassungsfähig an Bier und Würze und vermögen die Hauptgärung des Bieres zu überdauern, wie in zahlreichen Versuchen nachgewiesen wurde. Verf. kommt zu dem Schluß, daß der in Ställen sich zersetzende Pferdeharn als Zuchtstätte von Sarcinen für benachbarte Brauereibetriebe und in diesen besonders für das Kühlschiff eine bedeutende Infektionsgefahr bilde. Rommel (Berlin).

Stockhausen, F., Oekologie, „Anhäufungen" nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht[3]).

Die Arbeit bildet eine Fortsetzung und Ergänzung der seinerzeit hier (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. No. 25) erwähnten systematischen Zusammenstellung der Arbeiten Beijerincks, soweit sie die Anhäufung einer bestimmten Mikroorganismenart in einem Substrat mit zahlreichen Organismen betreffen. Die Anhäufung wird hierbei er-

1) Wochenschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. No. 14. p. 182—184 und No. 15. p. 197—199.)
2) Ebenda, No. 15. p. 193—197 und No. 16. p. 209—212.
3) Ebenda, No. 23. p. 301—304; No. 24. p. 313—316; No. 25. p. 325—331.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reicht durch Schaffung von geeigneten Vorbedingungen für das Aufkommen der betreffenden Organismen, d. h. durch natürliche Reinzucht im Delbrückschen Sinne. Rommel (Berlin).

Delbrück, M., Wirkung des Getreidegiftes auf untergärige Bierhefe und andere Mikroorganismen[1]).

Verf. berichtet über Versuche znr Ermittelung der Art und der Stärke der Giftwirkung, welche die Getreidearten auf verschiedene Mikroorganismen auszuüben vermögen. Die Giftwirkung wurde bei der in erster Linie zu diesen Untersuchungen herangezogenen untergärigen Bierhefe durch die an der Triebkraft (beobachtet nach dem Zusammenbringen der Hefe mit einer Lösung ven Rohrzucker in destilliertem Wasser) auftretenden Veränderungen festgestellt.

Mais und Hafer (Mehl oder Schrot) zeigen auffallenderweise eine anregende, Roggen, Weizen und Gerste dagegen eine die Triebkraft der Hefe aufhebende Wirkung. Roggen vermag anzuregen, wenn die Menge des zugesetzten Mehles oder Schrotes eine gewisse Grenze überschreitet.

Der Sitz des Giftstoffes befindet sich anscheinend nur in den Körnern, wenigstens ließ sich dies für Roggen feststellen, dessen Grannen, Spelzen, Halme, Wurzeln und Blätter keine Giftwirkung ausübten. In den Roggenkörnern sind in erster Linie die Eiweißbestandteile von hervorragender Giftigkeit, dasselbe ist beim Weizen der Fall.

Die Giftstoffe des Roggenschrotes sind in Aether und Alkohol nicht löslich, auch durch Wasserdampfdestillation läßt sich weder auf Zusatz von Säuren, noch von Alkalien ein giftiger Stoff extrahieren. Mit Glyzerin erhält man aus Weizenmehl einen ziemlich giftigen Auszug, mit destilliertem Wasser erhält man aus Roggen- und Weizenmehl durch Ausschütteln schwach giftige, bei sehr langem Schütteln bei höheren Temperaturen stark giftige Auszüge. Behandelt man Weizenmehl in Aufschwemmung mit destilliertem Wasser einige Stunden bei mindestens 30° mit zerriebener Hefe, Pepsin oder stark verdünnter Schwefelsäure, so erhält man stark giftige Auszüge.

Die Giftwirkung wässeriger Weizenmehlauszüge auf Hefe wird aufgehoben durch Kochen mit Säuren und Alkalien durch die Gegenwart von anorganischen, besonders von Kalk- und Magnesiumsalzen. Herabgesetzt wird die Giftwirkung durch Vermälzen des Weizens, durch Aufkochen der wässerigen Weizen- und Roggenauszüge und durch 48-stündiges Stehenlassen des Weizenmehles mit Wasser bei 40—50° C.

Nicht geschwächt wird die Giftwirkung des Weizenmehles durch die Gegenwart von Asparagin, durch mehrstündiges Erhitzen auf 105° oder Kochen des Mehles mit Wasser. Bei Roggenschrot wird die Giftwirkung durch Erhitzen aufgehoben. Auch das Vermaischen von Weizengrünmalz und hellem Brauereidarrmalz schwächt nicht die Giftwirkung, die hierbei übrigens in den Trebern ihren Sitz hat.

Die Giftwirkung von Gerstengrünmalz wird durch Darren wesentlich herabgesetzt.

Der Eintritt giftiger Wirkung bei Verwendung von Würze an Stelle von Rohzuckerlösung hängt von dem Kalkgehalt dieser Würze ab. Durch

1) Jahrbuch des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland. Bd. VII. p. 27—31.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lüftung in kalkarmer Würze bei Gegenwart von Weizenmehl wird die Bierhefe gegen das Gift nicht widerstandsfähig gemacht.

Mais ließ sich durch keine Art der Behandlung für Hefe giftig machen, bei Hafer geht die anregende Wirkung beim Vermälzen in eine schwache Giftwirkung über.

Papayotin besitzt giftige Eigenschaften für die Bierhefe, ebenso Pepton Witte und Hühnereiweiß, während Pepton Aschmann ungiftig ist.

Der Grad der Giftempfindlichkeit der untergärigen Bierhefe wird durch ihren physiologischen Zustand beeinflußt. Die Empfindlichkeit nimmt bei längerer Lagerung, besonders bei höherer Temperatur, zu.

Das Weizenmehl wirkt auch stark gärungshemmend auf Aceton-Dauerhefe aus untergäriger Bierhefe.

Gesunde obergärige Brennereihefe ist gegen Weizengift wenig oder nicht empfindlich, sie wird dies erst bei längerer Lagerung. Die Unempfindlichkeit muß als ein Rassenunterschied aufgefaßt werden, da untergärige Brauereihefe, unter den Verhältnissen der Lufthefefabrikation gezüchtet, nicht widerstandsfähig gegen Getreidegift wird.

Kahmhefen, Oidium und wahrscheinlich auch Torula sind gegen das Weizengift empfindlich. Rommel (Berlin).

Rothenbach, F. und **Hoffmann, W.,** Versuche zur Erhöhung der Oxydationswirkung der Essigbakterien durch Zusatz von Eisen- und Mangansalzen[1]).

Von Buchner und Gaunt war, gestützt auf die Tatsache, daß die Asche von Essigbakterien in geringen Mengen Eisen enthielt, die Theorie aufgestellt worden, daß die Enzymwirkung der Oxydasen lediglich durch leicht oxydierbare Metallverbindungen des Eisens oder Mangans veranlaßt wird.

Eine Reihe von Versuchen wurde daher von den Verff. in der Weise vorgenommen, daß geringe Mengen von 0,1 g Eisenoxydulsulfat oder Manganoxydulsulfat einer zu vergärenden sterilen alkoholischen Nährflüssigkeit zugesetzt wurden, um dadurch die enzymatische Oxygenasewirkung der Alkoholoxydase zu steigern. Zur Impfung der Nährsubstrate wurden Reinzuchtessigpilze benutzt und die Gärflüssigkeit bei 25° C im Thermostaten versäuert.

Die Ausbeute bezw. das Säurequantum der mit Ferro- oder Manganosalz behandelten Maischen erwies sich durchschnittlich keineswegs höher als die Säureproduktion bei Parallelversuchen ohne die beiden Metallsalze.

Da die Schnellessigbakterien bekanntlich als akklimatisierte Organismen anzusprechen sind, so wurde bei einer weiteren Fortführung dieser Versuche eine Vorakklimatisierung des stark säuernden und sehr anpassungsfähigen B. ascendens an sehr geringe Eisenmengen vorgenommen. Mit 0,01 g Ferrosulfat beginnend, wurde die Bakterie stufenweise schließlich an 0,1 g des Salzes gewöhnt. Auch diese Versuchsreihe ergab keine Unterschiede, welche zu gunsten der Behandlung der Essigbakterien mit Eisensalzen sprechen. Autoreferat.

1) Die deutsche Essigindustrie. Jg. XI. No. 16. p. 125—127.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Referate.

Carbone, D., Ricerche su l'origine di alcuni pigmenti microbici con speciale riguardo a la tirosinasi. (Sep. aus Rendiconti d. Istituto Lombardo. 1906.)

Um die Entstehungsbedingungen bakterieller Pigmente mit besonderer Rücksicht der Tyrosinase zu verfolgen, züchtete Verf. Micrococcus melitensis, Vibrio cholerae asiaticae, Bacillus anthracis, icteroides, coli, pestis bubonicae, pyocyaneus, prodigiosus, Staphylococcus pyogenes aureus in sauren oder alkalischen Salzlösungen mit und ohne Zusatz von Tyrosin, milchsaurem Eisenoxydul, bernsteinsaurem Ammon. Micr. melitensis, B. pestis bubonicae, anthracis, prodigiosus, St. pyogenes aureus zeigen dasselbe Verhalten mit und ohne Tyrosin. B. pyocyaneus bildet mehr Farbstoff und mehr Pyocyanin bei Tyrosingegenwart. Tyrosin wirkt aber dabei nur als Stickstoffquelle und teilt diese Wirkung mit 0,9 Proz. Ammonsuccinat. Eisenlaktat setzt die Farbstoffbildung etwas herab. Alte Cholerakulturen nehmen eine braunrote Farbe an, im Berkefeldschen Filtrate aus solchen Kulturen steigt aber die Färbung nach Tyrosinzusatz und aseptischem Verweilen im Thermostaten nicht an. Verf. vermutet die Existenz einer intracellularen Tyrosinase. Neutrale oder schwach saure, sterile Tyrosinlösungen nehmen eine gelbliche Färbung beim Aufbewahren im Thermostaten, alkalische werden in 8 Tagen tief goldgelb oder braungelb. E. Pantanelli (Rom).

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 2. vermehrte Auflage. Jena (G. Fischer) 1905. 12. Fortsetzung.

Die 3. Fortsetzung dieser Referate enthält den Bericht über die früher erschienenen Kapitel von Band I. Die nun vorliegende 15. Lieferung (21—25. Kapitel des I. Bandes) bringt im 6. Abschnitt in Kapitel 21—23 einschließlich die Keimfreimachung und Reinzüchtung. Prof. Dr. **R. Burri** bespricht im 21. Kapitel das Sterilisieren und geht nach allgemeinen Vorbemerkungen auf das Sterilisieren von Gasen und Flüssigkeiten durch Filtrieren über, dann folgt Sterilisierung durch trockne und feuchte Wärme und diskontinuierliches Sterilisieren. Beim Durchlesen dieser grundlegenden Sätze empfangen wir die Gewißheit von dem ausreichenden Hervorheben der wichtigsten Punkte und in den Abhandlungen über mineralische und organische Antiseptika und das gemischte Sterilisationsverfahren sind sodann alle Erfahrungen und Errungenschaften der neuesten Forschungen niedergelegt. Im 22. Kapitel bespricht **Burri** das Verfahren zur Züchtung aërober Kleinwesen. Mit dem Wesen und der Bedeutung der Reinzucht beginnend, führt er zunächst die flüssigen Nährböden an, geht dann auf die Verdünnungs- sowie die Anreicherungsmethode und fraktionierte Zucht über, welchen die durchsichtigen und schmelzbaren Nährböden folgen. Das Kochsche Plattenverfahren, seine Abarten und die Weiterzüchtung der mit Hilfe des Plattenverfahrens gewonnenen Reinzuchten bilden den Schluß. Auch dieses Kapitel ist interessant durch den Einblick in die allmähliche Vervollkommnung unserer Methoden.

Die Züchtung anaërober Kleinlebewesen ist im 23. Kapitel von Dr. **W. Omelianski**-St. Petersburg niedergelegt. Beginnend mit

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Lehre von der Anaërobiose wird eingehend die energetische Auffassung der Lebenserscheinungen besprochen und sodann nach Anführung der fakultativ anaëroben Bakterien, des Bindegliedes zwischen obligaten Anaërobiern und obligaten Aërobiern, die Beijerincksche Anschauung, daß die anaëroben Bakterien durchaus nicht als aërophobe anzusehen sind, sondern daß für sie die Anwesenheit von Sauerstoff dann förderlich ist, wenn der Gehalt hieran einen gewissen, sehr niedrigen Partialdruck nicht übersteigt und daß sie darum richtiger als mikroaërophile Bakterien zu bezeichnen sind, erwähnt. Dementsprechend schlägt Beijerinck die Bezeichnung Aërophile vor und haben Fermi und Bassu sich diesen Anschauungen angeschlossen. Ausführlich werden Chudjakows (1895) Untersuchungen über die Giftwirkung des Sauerstoffs bei einzelnen Bakterienarten, besonders bei Bacter. butyric. besprochen und auch die neuesten Forschungen Tarozzis erwähnt, welchem es gelang, anaërobe Bakterien bei freiem Luftzutritt zu züchten, sobald er zu dem Nährboden Stückchen von parenchymatösen Organen zusetzte (p. 592). Die ermittelten Tatsachen ergeben, daß die Beziehungen der Bakterien zum Sauerstoff je nach den Züchtungsbedingungen in ziemlich weiten Grenzen schwanken können. Auch ermittelte Chudjakow den Höchstgehalt an Sauerstoff, welcher die Entwickelung der den anaëroben Lebensbedingungen am besten angepaßten Mikroben nicht mehr beeinträchtigt und ob solcher für sämtliche anaëroben Mikroorganismen der gleiche ist. Aus einer Tabelle auf p. 584 ergibt sich, daß die geprüften saprophytischen Bakterien gegen Sauerstoff empfindlicher sind als die pathogenen. Auf die ausführlichen Mitteilungen über das Verhalten der anaëroben Bakterien zum verdünnten Sauerstoff, ferner auf eine gewisse oberste Grenze der Sauerstoffkonzentration für aërobe Organismen auf p. 585—86 sei besonders aufmerksam gemacht. Den Schluß dieses äußerst gediegen bearbeiteten Kapitels bilden die Angaben des Züchtungsverfahrens luftscheuer Kleinlebewesen.

Im 7. Abschnitt folgen die thermogenen und photogenen Bakterien und im 24. Kapitel bespricht Prof. Dr. **Behrens** die ersteren sowie die Wärmeerzeugung durch Gärungsorganismen. In der Einleitung (§ 132) wird hervorgehoben, daß auch bei den Gärungsorganismen die meisten Vorgänge des Stoff- und Kraftwechsels mit thermischen Veränderungen verbunden sind. Die quantitativen Untersuchungen von Rodenwald zeigen in wie hohem Maße die Sauerstoffatmung bei aëroben Organismen für den Wärmehaushalt maßgebend sein kann und Rubner hat eine exakte Methode zur Messung der Wärmebildung bei den Gärungsorganismen ausgearbeitet und neuerdings seine Untersuchungen über Wärmebildung bei der spontanen Milchsäuregärung und Milchgerinnung ausgedehnt und das wichtige Ergebnis gefunden, daß die Wärmebildung der Milchsäurebakterien weit größer ist, als es der chemischen Gleichung der Milchsäuregärung entsprechen würde, daß also dieser Prozeß wahrscheinlich komplizierter verläuft.

Uebergehend auf die Temperatursteigerung größerer Mengen gärender Flüssigkeiten (Wein, Bier) wird berichtet, daß in manchen Produktionsgebieten, z. B. Südfrankreich, Tunis und Algier, in denen die Lufttemperatur zur Zeit der Traubenlese höher als bei uns ist, die Gefahr besteht, daß die Gärungswärme die Temperatur des gärenden Mostes auf 40° C und noch mehr steigern und hierdurch die Tätigkeit der Hefe selbst schädigen könnte, längst zu besonderen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vorsichtsmaßregeln anregte, um den Traubensaft von möglichst niedriger Anfangstemperatur zu erhalten. Später wird auf Selbsterwärmen beim Einsäuren von Futtermitteln und bei der Fermentation des Tabaks hingewiesen. Daß aber nicht immer Mikroorganismen die Ursachen der Wärmebildung in zusammengehäuften Massen organischer Substanz sind, sondern daß solche infolge der Eigenatmung eintritt, wird an keimender Gerste und beim „Schwitzen“ der Aepfel in Haufen bewiesen.

Der Konservierung des Hopfens ist § 134 gewidmet; daß gerade hierbei Selbsterwärmung auftritt, hängt mit der gewohnten Verpackung in Säcken und Ballen zusammen und **Behrens** zeigte, daß diese Erwärmung eine Folge von der Entwickelung der dem Hopfen in- und aufsitzenden Organismen sei.

Das größte Interesse unter den von Behrens in angegangenem Hopfen aufgefundenen Organismen nimmt ein Trimethylaminbildner ein, welcher recht häufig in Gestalt eines aëroben Stäbchens aufzutreten scheint. Weitere Hopfenverderber sind Aspergillus glaucus und Penicill. glaucum und O. Harz beobachtete deren noch eine ganze Anzahl (p. 609); auch Oid. lactis und humuli wurden nachgewiesen. Dagegen konnte Behrens aus Hopfen keine entwickelungsfähigen thermophilen resp. thermotoleranten Organismen züchten. Daß aber neben obligaten Aërobiern auch fakultative Anaërobier im Hopfen vorkommen, ist durch die Aufbewahrung unter Luftabschluß und in Kohlensäureatmosphäre bewiesen, da solche das Warmwerden nicht verhindern konnten, sondern nur genügende Trocknung und Lagerung in kalten Räumen Erfolg hatten. Daß zur Konservierung jetzt allgemein Schwefeln angewendet wird, ist bekannt. Der überall verbreiteten Anschauung, daß durch die schwefelige Säure die auf und in dem Hopfen sitzenden Pilzkeime abgetötet würden, vermochte Behrens sich auf Grund seiner Versuche nicht anzuschließen, da er nur eine Keimminderung von ca. 40 Proz. zu erzielen vermochte und solche nicht genügt, um die unbestreitbar günstige Einwirkung des Schwefelns zu erklären; derselbe Forscher fand aber, daß geschwefelter Hopfen und seine Absude viel weniger zum Schimmeln und Verderben neigen, als ungeschwefelter. Volle Klarheit herrscht also noch nicht in dieser Frage, es scheint aber, daß sich beim Schwefeln antiseptisch wirkende Stoffe bilden.

Sehr eingehend ist die wirtschaftlich äußerst wichtige Frage über die Aufbewahrung des Getreides und anderer Sämereien in § 135 behandelt und seien Interessenten hierauf verwiesen. Bakteriologisch wichtig sind die unter Umständen Geschmacksänderung und Gesundheitsstörung hervorrufenden Mikroorganismen, von denen p. 612—13 eine ganze Anzahl nachgewiesen wurde. Auch qualitative Beobachtungen über Temperatursteigerung in Getreidevorräten bis zu 52—56° C sind hierbei angeführt.

Bei Bereitung von Braunheu und Brennheu dürfte nach Miehes Untersuchungen die Einwirkung von Gärungsorganismen beim Warmwerden des Heus sicher sein, aber beim Tabakfermentieren scheint Löws Ansicht, daß solches durch oxydierende Enzyme hervorgerufen werde, die Oberhand zu gewinnen.

Die Selbstentzündung bildet den Schlußparagraphen (137); erst Anfang der 70er Jahre gelang es Ranke das tatsächliche Vorkommen solcher Fälle in zweifelloser Weise festzustellen. Nach diesen Versuchen wird durch die Gärungsorganismen und die lange Einwirkung der

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

höheren Temperaturen u. dgl. das Heu resp. die organische Masse „pyrophor“ und nimmt damit die Eigenschaft der Selbstentzündung an der Luft an. Rankes Versuche wurden von Wohltmann und von Herzfeld in modifizierter Form bestätigt. Außer bei Heu und Kleie wurden ganz besonders bei Schiffsladungen von Brasiltabak Selbstentzündungen beobachtet.

Die photogenen Bakterien behandelt im 25. Kapitel Prof. Dr. **H. Molisch**-Prag und ergibt der geschichtliche Teil der Abhandlung zunächst, daß nicht, wie häufig angenommen, E. Pflüger, sondern der Chemiker J. F. Heller 1853 zuerst nachwies, daß das Leuchten toter Tiere auf das Leuchten der auf ihnen lebenden Bakterien zurückzuführen ist.

Zahlreiche Forscher haben diese Mikroorganismen beobachtet und jetzt sind nahezu 30 Arten bekannt, deren Systematik wohl noch verbesserungsbedürftig ist. Migula hat als erster die meisten Leuchtbakterien in den verschiedenen Abteilungen des Bakteriensystems untergebracht und sind die Synonymen p. 625—26 angegeben; hier ist auch das auf dem Festlande überaus leicht beschaffbare und auf dem Schlachtviehfleisch häufig auftretende Leuchtbakterium, Bact. phosphor. (Cohn) Molisch genau beschrieben. Ueber das Leuchten des Fleisches toter Schlachttiere, toter Seetiere, der Hühnereier und Kartoffeln folgen in § 139 genaue Angaben, auch über die Zucht von Leuchtbakterien auf Fleischstücken ist eine zu fast immer sicherem Ergebnisse führende Vorschrift beigefügt. Sehr interessant sind Einzelangaben über das Auftreten von Leuchtbakterien auf lebenden Tieren (p. 628). Hieran schließen sich Mitteilungen über Ernährung, Wachstum, Leuchten und Temperatur und in sehr scharfsinniger Weise wird auf die Verwendung der Leuchtbakterien als Reagens auf Enzyme und Sauerstoff hingewiesen, da dieselben Licht nur bei Gegenwart von Sauerstoff und dann aber bei den geringsten Spuren entwickeln.

Bezüglich der Theorie des Leuchtens (§ 142) ist noch keine Einigkeit erzielt. Wahrscheinlich wird wohl in den lebenden Zellen ein Stoff, Photogen, gebildelt, dessen Entstehung der der Zymase ähneln dürfte, da er sicherlich an die lebende Zelle geknüpft ist. Ganz besonders sei auf den Schlußparagraphen (143) „das Bakterienlicht, seine Eigenschaften und die Möglichkeit praktischer Verwertung“ hingewiesen. Wir sehen hier das Bakterienlicht in Form einer Lampe benutzt, deren Anwendung Dubois veröffentlichte und etwas später und ganz unabhängig davon von Molisch, welcher Zuchten von Bact. phosphor. benutzte, erweitert wurde. Beigegebene Abbildungen und Zahlen lassen auf die Größe der Lichtquellen schließen (p. 636 und 37). Zu den interessantesten Versuchen dürften aber diejenigen zu zählen sein, welche bezüglich heliotropisch empfindsamer Pflanzen gleichfalls von Molisch ausgeführt und von Nadson bestätigt wurden. Dagegen gelang es Molisch nicht durch das Bakterienlicht, wohl infolge seiner geringen Intensität, ein Ergrünen bei verschiedenen Keimlingen hervorzurufen. Praktisch aber kann diese Lichtentwickelung verwendet werden, um Risse, Sprünge und größere Poren der aus Biskuit oder Infusorienerde hergestellten Bakterienfilter nachzuweisen, da nach Beijerinck die Leuchtbakterien durch fehlerhafte Chamberland kerzen hindurchwachsen, sich ausbreiten und durch ihre Lichtbildung die ungenügende Beschaffenheit der Filter verraten.

Rullmann (München).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ehrlich, Ueber die Bedingungen der Fuselölbildung. (Zeitschrift des Vereins der deutschen Zuckerindustrie. Heft 615. 1907.)

Verf. berührt kurz den von ihm zuerst geführten Nachweis, daß das Fuselöl nicht einer bakteriellen Zuckerzersetzung seine Bildung verdankt, sondern daß vielmehr aus dem Eiweiß stammende Aminosäuren die Muttersubstanzen der bei der Gärung auftretenden höheren Alkohole sind, und daß die letzteren infolge einer Lebenstätigkeit der Hefe sich bilden. Es besteht ein naher Zusammenhang zwischen der Fuselölbildung und dem Eiweißaufbau der Hefe, indem nämlich die hauptsächlichsten Fuselölbildner, das Leucin und das Isoleucin, nicht als solche von der Hefe aufgenommen und ihrem Körpereiweiß einverleibt werden, sondern während der Gärung vermutlich durch ein hydratisierendes Enzym der Hefe in den um ein Kohlenstoffatom ärmeren Alkohol, sowie in Ammoniak und Kohlensäure gespalten werden. Das so gebildete Ammoniak wird dann unmittelbar nach seiner Entstehung von der Hefe auf Körpereiweiß verarbeitet.

Verf. gibt dann nähere Mitteilungen über eine Reihe von Versuchen, bei denen zunächst durch Hefe Zucker allein, wie unter Zusatz von Leucin vergoren wurde. Es zeigte sich deutlich, daß man durch den Leucinzusatz den Fuselölgehalt des Spiritus bis auf das 7—8-fache der gewöhnlich erhaltenen Menge steigern kann, und zwar besonders bei Wirken einer relativ geringen Hefemenge auf viel Zucker. In gleicher Weise wird die Verwendung einer sehr stickstoffarmen Hefe wirken, wie auch die Zufügung von Nährsalzen, die es der Hefe ermöglichen, weiterzuwachsen.

Ein nun besprochener Versuch einer Stickstoffbilanzaufstellung bei der Hefegärung von Zucker und Leucin ergibt eine scheinbare Mehrbildung von einer 0,5 g Leucin entsprechenden Amylalkoholmenge, gegenüber dem aus der verschwundenen Leucingabe zu erwartenden Quantum. Es wird hierfür die noch bestehende Unvollkommenheit der Methoden verantwortlich gemacht. Nach Mitteilung weiterer Versuche über den Einfluß anderer Stickstoffsubstanzen auf die Fuselölbildung der Hefe, die ebenfalls für den Zusammenhang zwischen der Fuselölbildung und dem Eiweißaufbau der Hefe sprechen, folgt noch das Ergebnis von Untersuchungen über den gleichen Vorgang bei der Melassegärung nach Zusatz verschiedener Stickstoffverbindungen.

Außer den bereits erwähnten nenne ich sonst noch als Ergebnisse, daß die Hauptquellen für die Bildung des Fuselöls die in den natürlichen Maischen teils direkt vorhandenen, teils bei der Malzverzuckerung aus dem Eiweiß der Rohmaterialien abgespaltenen Aminosäuren, während das Eiweiß der Hefe dafür nicht in wesentlichem Maße in Betracht kommt. Eine Ausnahme hiervon tritt bei der Gärung eigentlich nur dann ein, wenn die Hefe infolge mangelnder Stickstoffnahrung, zu hoher Erwärmung, oder aus anderen Gründen einer teilweisen Autolyse unterliegt.

Durch Zusatz von Leucinen und ihren Homologen zu gärenden Maischen kann man weiter den Fuselölgehalt des Rohspiritus steigern, während sich andererseits durch genügende Mengen anderer von der Hefe leicht assimilierbarer Stickstoffnahrung die Bildung derselben einschränken oder fast hindern läßt; es wirken so nach den Versuchen des Verf. z. B. Ammoniumkarbonat, Ammoniumphosphat und Ammoniumsulfat, wie auch Asparagin.

Theoretisch ist noch wichtig, daß die vorstehenden Untersuchungen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den ersten Beweis dafür geben, daß, wie bereits E. Schulze für Keimpflanzen annahm, der mit dem Abbau der Aminosäuren bis zum Ammoniak verbundene Aufbau von Eiweiß nicht nur möglich, sondern im Leben der Hefe und vielleicht noch vieler anderer niederer Organismen der gewöhnliche ist. Ehrenberg (Breslau).

Jensen, Orla, Einige Bemerkungen über Lab- und Labbereitung. (Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1907. Heft 2.)

Die Bedeutung des Labes für die Reifung der Käse muß von einem vom Pepsin verschiedenen proteolytischen Enzym herrühren, und ein solches ist bereits 1903 von van Slyke, Harding und Hart beobachtet worden, indem diese Forscher bemerkten, daß, während reines Pepsin das Milchkasein nur in Gegenwart von Säuren auflösen konnte, das Lab auch ohne Säurezusatz eine lösende Wirkung auf diesen Eiweißstoff ausübte. Dieser Tatsache wurde jedoch von den Entdeckern keine weitere Aufmerksamkeit geschenkt. Den eigentlichen Beweis dafür, daß im Lab ein vom Pepsin verschiedenes proteolytisches Enzym vorkommt, verdanken wir E. Petry. Dieser Forscher zeigte, daß die Wirkung des Labes mit der Gerinnung der Milch nicht beendigt ist, sondern daß eine fortwährende Bildung von primären und sekundären Albumosen stattfindet. Die Labspaltung des Kaseins folgt wie die peptische Spaltung dem Gesetze von Schütz und Borrisow. Das hierbei tätige Enzym wirkt aber auch in neutraler Lösung und bei niedrigen Temperaturen (+ 4°). Rohes Serumalbumin, gekochtes Hühnereiweiß und Gelatine greift es nicht an. Durch Sodalösungen wird es stärker geschwächt als das Chymosin. Jensen schlägt vor, dieses neue Enzym „Kasease" zu nennen, weil es ein spezifisches Enzym des Kaseins zu sein scheint. Es ist anzunehmen, daß die Bildung von löslichen Eiweißstoffen in Käsesorten, in welchen die Vermehrung der verflüssigenden Kokken durch schnell einsetzende Säuerung oder durch sehr hohe Temperaturen auf der Presse gehemmt wird, hauptsächlich der Kasease zuzuschreiben ist, während bei diesem Prozeß in Käsesorten, in welchen die verflüssigenden Kokken zu ihrer Entwickelung reichlicher Zeit finden, auch das Trypsin dieser Bakterien in höherem oder geringerem Grade beteiligt ist. Die Bildung von Aminosäuren dürfte wohl bei allen Hartkäsen das Werk des Endoerepsins der sich in den ersten Tagen stark vermehrenden Milchsäurebakterien sein. Bang hat gezeigt, daß das Labenzym der Mägen von Menschen, Schweinen und Hunden, das Parachymosin, andere Eigenschaften besitzt als dasjenige der Kälbermägen, und niemand weiß, ob hiermit die Anzahl der proteolytischen Magenenzyme geschlossen ist. Infolge des Reichtums der Tiermägen an verschiedenen Enzymen ist es nun nicht gleichgültig, wie man das Lab für die Käsebereitung darstellt. Geht man aber auch von Kälbermägen aus, so erhält man je nach dem verwendeten Extraktionsmittel Lablösungen, in welchen die einzelnen Enzyme in einem verschiedenen Mischungsverhältnis stehen. Die Stärke eines Labauszuges steigt durch die Verwendung von Säuren, während die Pepsinstärke nur bei der Verwendung von verhältnismäßig starker Salzsäure ebenso hoch wird wie mit reinem Wasser. Lab und Pepsin sind also nicht identisch, denn sonst müßte das Verhältnis zwischen den Mengen dieser zwei Enzyme stets das gleiche sein. Der Unterschied zwischen Naturlab und Kunstlab ist nicht nur bakteriologischer Natur, sondern die Käsemasse gibt bei Verwendung des letzteren die Molken schwieriger ab als bei der Verwendung des ersteren. Das Ideal bleibt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Verwendung von Kunstlab von genau bekannter Stärke und von Reinkulturen, deren Menge jeden Tag dem Säuregrad der Milch anzumessen ist. Verf. unternahm Versuche, um ein für die Emmentalerkäsefabrikation geeignetes Kunstlab herzustellen. Am geeignetsten war ein aus Labmägen mittelst verdünnter Milchsäure hergestelltes Extrakt. Die Versuche sollen jedoch noch nicht entscheidend sein, sondern es erst durch Wiederholungen in mehreren Käsereien werden. Zum Schlusse seiner Arbeit widmet der Verf. noch einige Worte der Naturlabbereitung und kommt zu der Folgerung, daß jede noch so geringe Aenderung in der Labbereitung im stande ist, die Eigenschaften der Extrakte zu beeinflussen, und daß deshalb dieser Sache die größte Aufmerksamkeit geschenkt werden muß. Teichert (Memmingen).

Laxa, Otakar, Ueber den Einfluß der Laktose und der Milchsäure auf die Zersetzung von Kasein durch Mikroorganismen. (Milchwirtsch. Centralbl. 1907. No. 5.)

Die biochemischen Veränderungen der Milch und ihrer Produkte hängen zusammen mit der Gegenwart der Laktose in der Milch. Ueber den Einfluß des Milchzuckers auf die Zersetzung von Käse haben Boeckhout, de Vries, Babcock und Russell berichtet. Laktosefreier Käse faulte, wogegen derselbe Käsebruch nach Zusatz von Laktose normalerweise reifte. Da durch diese Untersuchungen jedoch nicht systematisch der Einfluß der Laktose auf die Käsereifung genügend durchforscht wurde, veröffentlicht der Verf. die Resultate seiner dahingehenden Studien, um zur Klärung und Bestätigung mancher Beobachtungen bei der Käsereifung beizutragen. Bei seinen Versuchen beobachtete er die durch Mikroorganismen hervorgerufenen Veränderungen an reinem Kasein unter Zusatz von chemisch reiner Laktose. Zur Beobachtung diente eine Lösung von Mineralnährstoffen, in der das nach Hammarsten zu bereitende Kasein suspendiert wurde; die mit der Lösung beschickten und sterilisierten Kölbchen wurden sodann mit den betreffenden Bakterien beimpft. Je 200 ccm Lösung wurden in Kölbchen eingeteilt und in jedem Kölbchen 6 g suspendiert und nach Bedarf entweder 2 g Laktose oder 1,6 g Milchsäure zugesetzt. Von den Mikroorganismen wurden verwendet die Milchsäurebakterien der Art Bacillus lactis acidi: Bacillus α (Freudenreich), Streptococcus No. 1 aus Backsteinkäse gezüchtet; Gelatine peptonisierende Bakterien: Bacillus No. 1 und No. 2 aus Backsteinkäse gezüchtet, ferner Oidium lactis. Endlich wurden Mischkulturen der angeführten Mikroorganismen angelegt. Die Milchsäurebakterien bewirkten eine geringe Peptonisation des Kaseins, welche bei Gegenwart von 2 g Laktose noch verringert wurde. Durch das Oidium lactis in Gegenwart von Laktose oder einer geringen Menge Milchsäure stieg die Peptonisation des Kaseins, was besonders für Weichkäse von Wichtigkeit ist. Bacillus No. 2 peptonisierte bei Gegenwart von Laktose eine doppelte Menge von Kasein, als es der Fall war, wenn kein Zusatz von Laktose gemacht wurde. Ein Zusatz von Milchsäure oder die gleichzeitige Anwesenheit von Milchsäurebakterien im Gemische mit Laktose hatte die Peptonisation auf eine geringe Menge erniedrigt. Bei gleichzeitiger Gegenwart von Oidium lactis nahm der proteolytische Prozeß bedeutend zu. Hieraus ist die Notwendigkeit der Anwesenheit milchsäurezersetzender Organismen zur Genüge bewiesen, wenn die einzelnen peptonisierenden Bakterien in Gemeinschaft mit den Milchsäurebakterien richtig einwirken sollen. Bacillus No. 1 konnte nur

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine geringe peptonisierende Wirkung erzielen, welche auch bei Zusatz von Laktose nicht geändert wurde. Aus den Versuchen geht weiter hervor, daß bei der Zersetzung von Kasein flüchtige Säuren gebildet werden, woraus man schließen kann, daß auch in den Käsen ein Teil der gebildeten flüchtigen Säuren ihren Ursprung in dem zersetzten Kasein haben dürfte. Die Zersetzung des Kaseins zufolge der symbiotischen Einwirkung einiger Mikroorganismen in Milchkulturen war so intensiv, daß sich Schwefelwasserstoff gebildet hatte; hieraus erhellt, daß die Mikroorganismen in der Symbiose bedeutend eingreifendere Zersetzungsvorgänge veranlassen können, als sie es sonst allein vermögen. Im allgemeinen unterstützt also die Laktose bei einigen Organismen die Peptonisation von Kasein, während die Milchsäure in bestimmter Menge auf den Peptonisationsprozeß hemmend einwirkt. Die peptonisierenden Bakterien sind gegen Milchsäure sehr empfindlich, wogegen die Schimmelpilze die Milchsäure leichter vertragen, da sie dieselbe zerlegen.

Teichert (Memmingen).

Beck, Ueber einen Fruchtäther bildenden Micrococcus (Micrococcus esterificans). (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXIX. Heft 2.)

Nach einer eingehenden Literaturübersicht wird der vom Verf. gefundene, ein eigentümliches Aroma entwickelnde Coccus beschrieben. Er gleicht äußerlich dem Staphylococcus pyogenes aureus und hat bei 10 Jahre langer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden sein esterbildendes Vermögen nur in ganz geringem Grade eingebüßt. Bis zu 3—4 Tagen ist der fruchtätherartige Geruch stets deutlich ausgeprägt.

In Alkohol ist die aromatisch riechende Substanz nicht löslich, wohl aber in Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff. Nach dem Abdunsten bleibt der Aetherextrakt als bräunliche klebrige Substanz zurück. Vermutlich ist das Aroma an eine Fettsubstanz gebunden.

Im Gegensatz zu den meisten esterbildenden Bakterien greift der Becksche Coccus Eiweiß nur in geringem Grade an. Darauf beruht wohl, daß Butter, die mit Bouillonkultur des Coccus bereitet wird, sich etwa 5 Tage länger hält als gewöhnliche aus derselben Sahne bereitete Butter. Vielleicht kann der Micr. esterificans für die Herstellung der Butter, um ihren Geschmack zu verbessern und ihre Haltbarkeit zu erhöhen, Bedeutung gewinnen. Meinicke (Saarbrücken).

Musehold, P. und **Bischoff, H.,** Sicherstellung der Trinkwasserversorgung im Felde. (v. Leuthold-Gedenkschrift. Bd. I. p. 173 ff. Berlin [Hirschwald] 1906.)

Die Nutzbarmachung der Oberflächenwasservorräte für die Trinkwasserversorgung der Feldtruppen kann wegen der Mannigfaltigkeit der zu berücksichtigenden Verhältnisse nicht einheitlich geregelt werden. Für kleinere Truppenverbände, Feldwachen, Patrouillen u. s. w. kommen in erster Linie die Berkefeld-Armeefilter in Betracht, die in zweckmäßiger Verpackung von einem einzelnen Mann an Stelle des Kochgeschirres auf dem Tornister getragen werden. Die Filterkerzen müssen vor ihrer Anwendung auf ihre Keimdichtigkeit geprüft sein. Sie sind von besonders zuverlässigen Leuten zu bedienen, die dauernd zu kontrollieren sind und mit den Kerzen vorsichtig umzugehen haben. Bei einem Gewicht von 3000 g haben diese Einzelfilter eine Minutenleistung von 3 l bei Verwendung von klarem Wasser. Die Wassersterilisation durch Chemikalien

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

kann wegen der Unsicherheit aller bisher bekannten Mittel nur als ein Notbehelf angesehen werden. — Für eine Sammelwasserversorgung größerer Truppenverbände, Regimenter, Brigaden, sowie der Feld- und Kriegslazarette kommt das vollkommenere Verfahren der Sterilisation des Wassers mittelst Siedehitze, vielleicht auch mittelst Ozon in Betracht. Ausführlich wird der Werdegang des fahrbaren Trinkwassersterilisationsapparates der Firma Rietschel & Henneberg beschrieben, dessen neuestes Modell (1905) allen Anforderungen gerecht wird. Er liefert 400—500 l sicher sterilen und von Kochgeschmack und Trübungen völlig freien Wassers, das nur 3° über der Eintrittstemperatur mißt. Der Apparat ist als zweispänniges Fahrzeug montiert, wiegt 1300 kg, und ist durchaus feldtüchtig. Zur Bedienung ist nur ein Mann erforderlich, da nur bei Beginn eine Handpumpe, später aber eine Dampfpumpe das Wasser zuführt. Sämtliche Teile des Apparates sind durch dessen eigenen Dampf leicht zu sterilisieren, das zufließende Wasser wird zunächst als Kühlwasser verwendet und dann erst dem Kessel zugeführt. Ganz analog ist auch eine transportable Anlage für Dauerbetrieb, z. B. für Lager oder größere Forts, mit 1000 l Stundenleistung konstruiert (Gewicht 2450 kg, Kohleverbrauch 2 kg pro Stunde). Als Kochapparate mittlerer Größe, für Truppenverbände in Stärke von etwa einer Kompagnie, ist Kades Trinkwassersterilisator zu empfehlen, der besonders für den Gebrauch in den Tropen konstruiert worden ist. Als Heizquelle dient ein Petroleumgasbrenner, die Verpackung ist so eingerichtet, daß der ganze Apparat in vier Kisten von je 25 kg Gewicht (= 1 Trägerlast) untergebracht ist. Er liefert 120 l in der Stunde, die Austrittstemperatur des nach dem Prinzip des Gegenstromes durch das zufließende Wasser gekühlten austretenden Wassers liegt nur um 3° höher, als die des ersteren. Ein anderer leicht transportabler und insofern den Feldverhältnissen gut angepaßter Wassersterilisator ist der tragbare Wasserbereiter der Firma Rietschel & Henneberg. Er eignet sich besonders für Pionier- und Sanitätskompagnien und wird für den Transport in zwei Teile à 25 kg Gewicht zerlegt. Auf diese Weise kann er von 2 Leuten nach Art eines Tornisters getragen oder zu beiden Seiten eines Packsattels angeschnallt werden. Es kann jedes beliebige Heizmaterial verwendet werden. Der Betrieb des Kessels ist ein unterbrochener und regelt sich automatisch. Das Wasser kann den Kessel erst verlassen, wenn ein Druck von 0,2 Atmosphären erreicht ist, also das Wasser eine Temperatur von 105° C erlangt hat. Bei einer Stundenleistung von 60—75 l übersteigt die Temperatur des sterilisierten Wassers diejenige des Rohwassers um $2^1/_2$° C, bei einer Leistung von 100—120 l um 4—5°. Auch dieser Apparat ist leicht durch seinen eigenen Dampf zu sterilisieren. — Des weiteren wird die fahrbare Ozonanlage der Firma Siemens & Halske geschildert, die auf 2 zweirädrigen Wagen untergebracht ist. Sie liefert 2—3 cbm Wasser pro Stunde. Da je nach der Beschaffenheit des zu sterilisierenden Wassers die Ozonmenge und die Durchtrittsgeschwindigkeit des Wassers durch den Ozonturm variiert werden muß, müßte für Feldverhältnisse, wo eine ständige bakteriologische Kontrolle des Sterilisationseffektes nicht möglich ist, bezüglich des Ozonverbrauches ein großer Sicherheitskoeffizient in Rechnung gestellt werden. Bezüglich ihrer Feldtüchtigkeit sind diese Apparate noch nicht erprobt. Hetsch (Metz).

Bettencourt, A. et **Borges, J.,** Subsídio para o estudo bacteriológico das águas potaveis de Angra do Heroismo.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(Archivos do real instituto bacteriológico Camara Pestana. T. I. Lisboa 1907. Fasc. 2.)

Die Arbeit besitzt im wesentlichen nur lokales Interesse. Verff. bestätigen den Wert der von Petruschky und Pusch angegebenen Methode, Bact. coli quantitativ als Indicator für Fäkalverunreinigung von Wässern zu bestimmen. Meinicke (Saarbrücken).

Seligmann, E., Ueber die Prüfung gereinigter Abwässer auf ihre Zersetzungsfähigkeit. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. LVI. Heft 3).

Abwasser reduziert Farbstoffe wie Methylenblau. Die Größe dieses Reduktionsvermögens eines Abwassers läßt sich quantitativ feststellen (Methodik, der für Milch üblichen nachgebildet, s. Orig.), Reduktionsvermögen und Fäulnisfähigkeit gehen nicht ohne weiteres parallel; höchstens kann man auf Grund der angeführten Zahlen sagen: ein Wasser, von dem selbst 10 ccm nicht mehr das Methylenblau (in der Versuchsanordnung) reduzieren, dürfte für praktische Zwecke als fäulnisfähig nicht in Betracht kommen.

Prüft man dasselbe Abwasser wiederholt in Zwischenräumen von 1—2 Tagen und konstruiert man sich von den erhaltenen Reduktionswerten eine Reduktionskurve, so erhält man ein Bild über den Verlauf der Zersetzung in dem betr. Abwasser. Man kann nämlich 2 Gruppen von Kurven unterscheiden: die erste Gruppe ist dadurch gekennzeichnet, daß auf die Reduktionszahlen am ersten Tage ein Ansteigen des Reduktionsvermögens in den nächsten Tagen folgt, bis zu einem Höhepunkt, nach dessen Ueberschreiten eine Abnahme des Reduktionsvermögens statt hat. Die zweite Gruppe zeigt vom ersten Tage an einen mehr oder minder plötzlichen Abfall der Reduktionswerte.

Da Hand in Hand mit dem Verlauf der Reduktionskurve die biologische Zersetzung verläuft, so bedeutet regelmäßig eine ansteigende Kurve, daß das betr. Abwasser weiterer energischer Zersetzung fähig ist (es fault nach); eine abfallende Reduktionskurve, daß das betr. Abwasser nicht mehr nennenswerte Mengen zersetzbarer organischer Substanz enthält (sein Reinigungseffekt ist der höhere).

Jedes Abwasser macht im Verlaufe seiner biologischen Reinigung ein Stadium der ansteigenden und ein Stadium der abfallenden Reduktionskurve durch. Das zeigen u. a. die Reduktionswerte desselben Abwassers in den verschiedenen Stadien seiner biologischen Reinigung durch Faulkammern und Brockenkörper.

Was zeigt nun der Reduktionswert eines Abwassers an? Nicht die „noch nicht abgebaute organische Substanz“, wie Spitta und Weldert meinen, sondern die im Augenblick der Untersuchung vorhandene, bakterielle Zersetzungsgröße organischer Substanzen. Autoreferat.

Schorler, B., Thallwitz, J. (mit Beiträgen von K. Schiller), Pflanzen- und Tierwelt des Moritzburger Großteiches bei Dresden. (Extrait des Annales de Biologie lacustre. T. I. 1906. p. 1—118.)

Das Gebiet der sächsischen Fischteiche, deren es etwa 600 gibt, zieht sich in der nördlichen Niederung in einem Gürtel aus der Leipziger Gegend im Westen, zur schlesischen Grenze im Osten, hier mit dem dichtbesetzten schlesischen Teichgebiet zusammenstoßend. In der Nähe der Elbe nördlich von Dresden, bildet das sächsische Teichgebiet eine

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach Süden in das Hügelland hineinragende Zunge, auf der die Moritzburger Teiche (25 größere und kleinere) liegen. Der Großteich, dessen Untersuchung von 1898—1904 währte, hat 87,10 ha Fläche mit größter Länge von 2140 m und größter Breite von 1110 m und erhält seine Zuflüsse am seichten Südwestende aus den Waldteichen der Kiefernhaide im Süden und aus den Abflüssen von Teichen im Westen. Sein weiches Wasser ist arm an gelösten anorganischen und organischen Bestandteilen.

Die Pflanzenwelt. I. Physiographische Faktoren. Der phänologische Charakter wird durch Eintritt der Drudeschen Frühlingshauptphase vom 2.—5. Mai (im Elbtal 28.—30. April) bestimmt; geographisch liegt das Teichgebiet an der Nordgrenze des hercynischen Bezirkes (Lausitzer Teichhügellandschaft Drudes) und enthält zahlreiche Florenelemente von atlantischer und nordbaltischer Verbreitung, die im sächsischen Hügelland fehlen oder sehr selten sind, wie z. B. Carex Pseudo-Cyperus, C. Cyperoides, Scirpus radicans, Leersia oryzoides, Hottonia palustris, Hydrocharis morsus ranae und Trapa natans, Hydrocotyle, Drosera longifolia, Lycopodium inundatum. Südlichste Grenze erreichen hier Scutellaria minor, Drosera intemedia, Erica Tetralix. Vom Hügelland im Süden treten einige montane Arten, wie Thalictrum aquilegifolium, Thlaspi alpestris, Arabis Halleri etc. bis nahe an das Teichgebiet. II. Formationen. Die eigentlichen Teichformationen sind die der Sumpfpflanzen, Strandpflanzen, Wasserpflanzen. Die Sumpfpflanzen gliedern sich in 1) Riedtypus im seichten Wasser, dessen Bestände das Steifseggenried oder Strictetum (Carex stricta mit Glyceria aquatica, Typha angustifolia, Acorus, Iris, Lysimachia, Hydrocharis etc.) und das Binsicht oder Juncetum (Juncus-Arten, Heleocharis, Riccia, Lythrum, Achillea, Ptarmica, Stellaria glauca, Salix aurita etc.) darstellen, 2) den Röhrichttypus mit der Glyceria aquatica-Facies, dem Phragmitetum, Typhetum, Scirpetum.

Die Formation der Strandpflanzen (Amphiphyten Schröters) umfassen die Heleocharis acicularis-Bestände, Agrostis alba-Bestände, Litorella-Bestände, Elatine-Bestände.

Die Formationsgruppe der Wasserpflanzen teilt sich 1) in die Formation der Schwimmpflanzen (Pleuston), 2) der Tauchpflanzen (Benthos) und 3) der Planktons. Von Schwimmpflanzen bildet nur Polygonum amphibium var. natans Much größere Bestände. Von Freischwimmern sind Hydrocharis, Lemna polyrrhiza, L. minor, Riccia natans vorhanden ohne aber die Physiognomie des Teiches zu beeinflussen.

Die Tauchpflanzen sind Ranunculus aquatilis, Elodea canadensis, Potamogeton crispus (Potamogeton compressus, Callitriche hamulata, Utricularia vulgaris), von Algen Encyonema prostratum, Amphipleura pellucida, 3 Cymbella-Arten, 2 Nitzschia-Arten, 10 Navicula-Arten, 2 Pleurosigmen, Eunotia paludosa, Himantidium pectinalis, Amphora ovalis, Surirella splendida und minuta, 2 Stauroneis, 2 Gomphonemen, 2 Epithemien, ferner Chaetophora Cornu damae, Draparnaldia plumosa, Oedogonium decipiens, Bulbochaete rectangularis, Gloeotrichia Pisum, G. natans, Spirogyra porticalis, Sp. nitida, Sp. decimina, Sp. gracilis, Stigeoclonium tenue, Zygnema stellinum, Hyalotheca dessiliens, Ceratium cornutum und C. hirundinella.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Planktonformation der Süßwasserbecken läßt sich in 4 Typen unterscheiden:

1) Gewässer mit weichem oder indifferentem Wasser, also mit geringem Gehalt an Mineralstoffen und an organischer Substanz.

2) Gewässer mit weichem Wasser, aber großen Mengen von gelösten organischen fäulnisfähigen Substanzen. Hierher gehören die meisten Dorfteiche mit ihrem Einfluß von Jauche etc.

3) Schwarzwässer oder Torfwässer mit weichem, kaffeebraunem Wasser, großem Gehalt an Humussäuren und daher von saurer Reaktion. Hierher gehören z. B. viele Teiche des oberen Erzgebirges, der Oberteich im Harz etc.

4) Hartes Wasser mit reichem Gehalt an Mineralstoffen, besonders von Kalk und Magnesia und alkalischer Reaktion.

Der Moritzburger Großteich reiht sich hiernach dem ersten dieser Typen an. Seine Lage bedingt reiche Einstrahlungen nordbaltischer und atlantischer Florenelemente. Die pflanzlichen Planktonten werden in einer besonderen Tabelle mit Angabe ihrer Häufigkeit in den einzelnen Monaten (sol., spar., cop. letztere Bezeichnung mit dem Grad der Häufigkeit) aufgeführt, auf die wir hier nur verweisen können.

Die Tabelle umfaßt 15 Schizophyten, 24 Flagellaten, 6 Peridiniales, 23 Diatomaceen, 23 Conjugaten, 38 Chlorophyceen und 1 Pilz (Fusarium aquaeductuum), also insgesamt 130 pflanzliche Planktonorganismen.

Die Quantitätsverhältnisse des Planktons waren Gegenstand besonderer Untersuchung, deren Ergebnisse gleichfalls in einer besonderen Tabelle niedergelegt sind. Die Gesamtproduktion schwankt innerhalb weiter Grenzen, von 36,5 ccm bis 695 ccm unter 1 qm Wasseroberfläche. Oder, wenn das Plankton im Wasser gleichmäßig verteilt wäre, so würden im Kubikmeter 16 bis 251 ccm Plankton enthalten sein. Die größte Produktion fiel auf den 2. September 1898, die geringste auf den 4. Januar 1902. Aus allen Messungen ergibt sich im Durchschnitt pro Quadratmeter Wasserfläche in Kubikcentimetern auf den Januar 103, Februar 82, März 102, April 152,5, Mai 182,6 Juni 138,6, Juli 163, August 201, September 404,7, Oktober 304, November 280. September Oktober und November sind die planktonreichsten Monate des ganzen Jahres. Die Verteilung über den Teich ist eine ziemlich gleichmäßige. Nur die Buchten machen vielfach eine Ausnahme, sie verhalten sich wie getrennte Wasserbecken. Es fehlen in ihnen auch eine Reihe von Arten, die im offenen Wasser zu gleicher Zeit Massenentwickelung zeigen, wie Anabaena flosaquae, Rhizosolenia longiseta und Atheya.

Jahreszeitenwechsel. Bezüglich der Aenderung des Planktons im Jahrescyklus sei auf die Tabellen verwiesen. Im März und Mai dominiert noch Asterionella gracillima, der sich Rädertiere, namentlich Anuraea cochlearis und Polyarthra platyptera reichlich beigesellen, dann wird Asterionella durch Dinobryon stipitatum verdrängt, mit dem sich von Tieren in Menge Notholca longispina mischt etc. Im Juni bis August überwiegt das tierische Plankton (im Juni Conchilus unicornis und Kruster, dann kommen im Juli Fragilaria crotonensis und Ceratium oder auch Anabaena macrocarpa). Im Herbst, September bis November, ist entweder Ceratium noch die herrschende Art, der sich dann reichlich die Melosiren (M. crenulata, M. granulata) etc. beigesellen, oder es hebt sehr bald die Massenentwickelung der Asterionella gra-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cillima an, die mit Synedra delicatissima die Wintermonate Dezember bis Februar charakterisiert. Ihnen mischt sich von Tieren Anuraea cochlearis und Cyclops strenuus in größerer Anzahl bei.

Die Tierwelt betreffend, werden zunächst die Wirbeltiere der Ufer und des Wassers erörtert. Von Säugern weisen zum Teich und seiner Lebewelt Crossopus fodiens, Arvicola agrestis, Mus minutus, Putorius foetidus und der Fuchs Beziehungen auf. Die Vogelwelt wies 42 Arten auf, von Reptilien wurde nur die Ringelnatter, von geschwänzten Lurchen Triton vulgaris und T. cristatus, von Batrachiern Rana esculenta, R. fusca, R. arvalis, Bombinator igneus, Bufo vulgaris und Bufo viridis beobachtet. Von Fischen wird der Teich von Karpfen, Schleien, verschiedenen Weißfischen, Barschen und Hechten besiedelt, außerdem beherbergt er den Bitterling Rhodeus amarus (der benachbarte Jägerteich auch das Moderlieschen, Leucaspius delineatus).

Das Verzeichnis der Wirbellosen aus der Kleintierwelt des Großteiches umfaßt 22 Rhizopoden, 21 Infusorien, 1 Schwamm (Euspongilla lacustris var. ramosa), 2 Cölenteraten, 7 Turbellaria, 39 Rotatoria, 2 Nematoden, 18 Anneliden, 5 Bryozoen, 77 Kruster, 1 Bärentierchen, 31 Arachnoidea, 98 Insekten (28 Coleoptera, 23 Neuroptera, 24 Orthoptera, 1 Thysanura, 11 Diptera, 11 Hemiptera), 25 Mollusken, zusammen 349 Arten.

Das Plankton. Obwohl der Großteich ein flaches Wasserbecken ist, das keine eigentlichen Seetiefen besitzt, ist er doch von solchem Umfang, daß die Fauna sich aus einer Tierwelt der Uferzone und des freien Wassers zusammensetzt. Die große Anzahl der Tiere der Uferzone und des Teichgrundes tritt nie ins Plankton über. Unter den tierischen Planktonten ist nur Leptodora kindtii „eulimnetisch". Eine zweite Gruppe ist in größter Menge im Plankton aber auch der Uferfauna beigemengt: Diaptomus gracilis, Daphnia Kahlbergiensis, D. hyalina, D. galeata, Notholca longispina, Anuraea cochlearis, Polyarthra platyptera, Conochilus unicornis, Epistylis rotans und die Copepoden, nauplien. „Bentholimnetisch", gleich in Plankton- und Uferfängen sind: Cyclops leuckartii, C. strenuus, C. vernalis, Alonella nana, Bosmina coregoni, B. longirostris, Diaphanosoma brachyurum, Anuraea aculeata, Synchaeta pectinata, S. oblonga, Asplachna priodonta, A. brightwelli, Difflugia globosa, D. hydrostatica, zeitweilig im Plankton, „tycholimnetisch" treten auf: Cyclocypris laevis, Chydorus sphaericus, Lynceus rostratus, L. costatus, L. affinis, Acroperus harpae, Coelopus tenuior, Mastigocerca capucina, M. cornuta, Diglena uncinata, Planaria torva, Acanthocystis turfaces, A. spinifera, Actinophrys sol. Der Wechsel nach Jahreszeiten, wie die in denselben tonangebenden Organismen sind aus einer besonderen Tabelle ersichtlich.

Die Schwebeinrichtungen (Gasvakuolen, Vergrößerung der Körperfläche mit Verwendung spezifisch leichter Stoffe, Ausbildung strauchartiger Kolonieen, glasartige Gallertkugeln etc.) ändern sich bei gewissen Arten mit der Jahreszeit und der damit parallel gehenden Aenderung der Wasserdichte. Die Mehrzahl der Arten ist von glasartiger Helle und Durchsichtigkeit; auffallend bunt sind nur Diaptomus gracilis und

Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Cyclops strenuus (lebhaft rot, ersteres mit Blaufärbungen) in der kalten Jahreszeit. Verschiedene Zusammensetzung des Planktons nach Oberfläche und Tiefe, oder periodische Vertikalwanderungen, wie sie in Seen großer Tiefe beobachtet wurden, kamen nicht vor. Die Biologie einiger Planktonarten des Großteiches findet eingehendere Erörterung.

Von Ufer- und Bodenkleintieren sind die Rhizopoden (Amoeba, Arcella, Nebela, Centropyxis, Euglypha, Cyphoderia, Lequereusia, Diffugia) sowohl Ufer- wie Grundbewohner, die zum Teil auch im Winter fortleben. Von Heliozoen war von Benthos Acanthocystis turfacea, A. spinifera, Actinophrys sol vertreten. Von Infusorien konnte nur ein geringer Bruchteil untersucht werden. Stentor polymorphus bildete im Sommer am Schilf grünliche Ueberzüge; unter der Eisdecke hielten aus Codonella lacustris, Prorodon edentatus, Lacrymaria vermicularis (durch Zoochlorellen grün), Amphileptus carchesii, Linotus anser, Loxophyllum fasciola, Vorticella campanula, V. nebularis, andere Arten von Prorodon, Epistylis, Cothurnis, Tokophrya cyclopum (auf Cyclops fimbriatus) fanden sich nur in einzelnen Monaten. Von Cölenteraten fanden sich Euspongilla lacustris var. ramosa, Hydra fusca, Hydra viridis (nur an Wasserlinsen), von Turbellarien: Mesostoma Ehrenbergi und Dendrocoelum lacteum, Clepsine sexoculata, Nephelis vulgaris, von anderen Würmern Dorylaimus stagnalis, Lumbriculus variegatus, Nais elinguis, Ripistes parasita, Pristina longiseta, Chaetogaster diaphanus und die nur aus England bekannte Ripistes macrochaeta; von Bryozoen: Paludicella articulata, Fredericella sultana, Plumatella repens, P. fruticosa, Cristatella mucedo, viele Rotatorien des Planktons. Von Krustern fanden sich nur in der Uferzone Sida cristallina, Simocephalus, Scapholeberis, Cercodaphnia, Polyphemus pediculus, andere, wie Alonella nana, sind in der Uferzone häufiger als im Plankton. Die Muschelkrebse sind außer Cyclocypris laevis nur Benthosbewohner so Cypria ophthalmica, Candona candida, C. pubescens. Von den 18 Cyclops-Arten des Großteiches sind einzelne, wie Cyclops serrulatus, nur Bewohner des Benthos, ebenso Asellus aquaticus, Gammarus fluviatilis. Von Gliedertieren war Podura aquatica auch im Winter massenhaft an eisfreien Stellen vorhanden. Die relative Armut der Molluskenfauna erklärt sich daraus, daß Anliegerrechte früher öfters zum Trockenlegen des Teiches zwangen.

Von Arten des Großteiches, über deren Vorkommen anderwärts nur wenig bekannt ist, seien erwähnt die Protozoen Arcella dentata Ehrbg., Centropyxis ecornis Leidy, Epistylis rotans Svec., der Wurm Ripistes macrochaeta (Borne), das Rädertierchen Metopidia cornuta (Schmarda), und die Kruster Lathonura rectirostris (O. F. M.), Ilyocryptus acutifrons Sars., Alonopsis latissima Kurz, Cyclops gracilis Lilljeb., C. varicans Sars, C. bicolor Sars, C. macrurus Sars, Canthocamptus northumbricus Brady.

In einem allgemeinen Schlußkapitel werden die gegenseitigen Beziehungen der Lebensgemeinschaft des Großteiches, das Variieren und Vikariieren der Organismen (Diaptomus gracilis spielt hier die Rolle, die in dem benachbarten Dippelsdorfer Teiche D. coeruleus spielt), das Fehlen sonst verbreiteter Arten, die Organismen welche

Sommeroptimum, Winteroptimum, Frühlings- und Herbstoptimum haben und die im Sommer und Winter zahlreicher sind, Einfluß von Temperatur und Belichtung, die Nahrungsquellen, die der Großteich in sich selbst trägt, Mulm- und Moderfresser, die die Selbstreinigung des Teiches besorgen, die Rolle, die Plankton und Benthos als Fischnahrung spielen, eingehender erörtert.

Die Tabelle III gibt eine graphische Uebersicht der Häufigkeit der Plankton- und Benthostiere während der einzelnen Monate des Jahres.

Ludwig (Greiz).

Katayama, T., On the preparation of a vegetable cheese from the protein of the Soy-bean. (Bulletin of the College of Agriculture, Tokyo. Vol. VII. No. 1. p. 117.)

Verf. hat versucht, aus dem Protein der Soyabohne, welches sich durch kochendes Wasser leicht extrahieren läßt und in gefälltem Zustande unter dem Namen „Tofu“ im Handel sich befindet, durch Zusatz von Salz und Milchzucker und Impfung mit Käse ein dem Käse ähnliches Produkt herzustellen. Der Versuch ist insofern als gelungen zu bezeichnen, als in der Tat eine Art Käse von nicht unangenehmen Geschmack erhalten wurde, der freilich nur sehr entfernt an eigentlichen Käse erinnert. Ob die Hoffnung des Verf., daß dieses Verfahren für die Praxis von Bedeutung werden könnte, in Erfüllung gehen wird, scheint freilich nach den bisher veröffentlichten Ergebnissen recht zweifelhaft zu sein.

Vageler (Königsberg).

Sasanow, Zur Frage über die Nitrifikation in Tschernosemböden, deren Beeinflussung durch verschiedene Faktoren, und die Menge von Nitraten im Boden zu verschiedenen Jahreszeiten. (Journ. f. experimentelle Landwirtschaft. 1907. Heft 1.)

Verf. stellt die Nitratmengen in einem guten, lehmigen Tschernosemboden, der zwar zu einem Futterrübenfelde gehörte, aber unbepflanzt geblieben war, fest. Es wurde gefunden bei einer 35 cm mächtigen Ackerkrume unter anderem:

Jahr 1904		Jahr 1905		Jahr 1906	
Bestimmung am	Menge des Nitratstickstoffs in der Bodentrockensubstanz aufs kg mg	Bestimmung am	Menge des Nitratstickstoffs in der Bodentrockensubstanz mg aufs kg	Bestimmung am	Menge des Nitratstickstoffs in der Bodentrockensubstanz mg aufs kg
21. April	2,7	16. Mai	7,6	21. April	11,5
8. Mai	5,3	24. Mai	10,8	12. Mai	16,5
22. Mai	6,6	14. Juni	19,3	25. Mai	20,7
12. Juni	4,8	4. Juli	22,6	15. Juni	29,0
8. Juli	30,4	23. Juli	27,2	7. Juli	34,5
23. Juli	19,1	16. August	29,1	27. Juli	36,0
7. August	19,2			12. August	41,0

Selbstverständlich sind diese Zahlen in hohem Maße von den jeweiligen klimatischen Verhältnissen abhängig, über die sich auch Angaben in der Arbeit finden, deren Anführung indes hier zu weit führen würde. Von den sonstigen Ergebnissen des Verf. seien noch hervorgehoben:

1) Im Herbst und Frühjahr enthält bei reichlichen Niederschlägen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die unter der Ackerkrume liegende Bodenschicht mehr Nitrate, als die Ackerkrume; im Sommer ergibt sich das entgegengesetzte Bild.

2) Als ein mächtiges Mittel zur Ansammlung von Nitraten in Tschernosemböden hat sich die rechtzeitige, auf die Erhaltung der Bodenfeuchtigkeit gerichtete Bodenbearbeitung erwiesen.

3) Ein Einfluß des Stalldüngers auf die Nitrifikation in Tschernosemböden ist gar nicht oder nur sehr schwach hervorgetreten.

4) Die in Form von Stroh in den Boden gebrachte, unzersetzte organische Substanz ist insofern von Bedeutung gewesen, als sie die Ansammlung von Nitraten im Boden in der ersten Zeit hintangehalten hat. Schon nach drei Monaten war diese schädliche Wirkung nicht mehr zu beobachten.

Die Pflanzen, darunter auch Leguminosen, die zum Zweck der Gründüngung angesät und dann untergepflügt worden waren, haben, abgesehen von der durch sie bewirkten Entziehung von Feuchtigkeit, den Boden zum Zeitpunkt der Ernte in hohem Maße an Nitratstickstoff erschöpft. Auch später hat sich ein wohltätiger Einfluß der Gründüngung auf die Nitrifikation nicht bemerkbar gemacht. Ehrenberg (Breslau).

Löhnis, Zur Frage der Stickstoffbindung im Ackerboden. (Mitt. d. landw. Institute der Universität Breslau. Bd. IV. Heft 1. p. 39.)

Pfeiffer wandte sich vor kurzem [1]) gegen die Kritik, welche Löhnis [2]) an seiner Arbeit „Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau", bezw. an den in dieser aufgestellten Thesen geübt hat. Auf diese Pfeifferschen Ausführungen erwidert Löhnis in der vorliegenden Publikation.

Pfeiffer beruft sich u. a. auf Angaben Thaers, nach welchen bei der alten Dreifelderwirtschaft auffallend geringe Ernten erzielt wurden, also von einer Stickstoffsammlung bei dieser Wirtschaftsweise nichts in die Erscheinung getreten sei. Mit Rücksicht auf die in Schwerzs „Praktischem Ackerbau" mitgeteilten Durchschnittserträge macht Löhnis jedoch die Feststellung, daß Thaers Angaben nur für Sandboden Geltung haben können. Auf solchem Boden wirkt die Brache aber nicht vorteilhaft, sondern nachteilig, unter Berufung auf die Thaerschen Angaben können demnach die auf besserem Boden erzielten bekannten Befunde Carons und Kühns nicht entkräftet werden. Des weiteren erklärt Pfeiffer, daß bei Brache unter allen Umständen forcierter Raubbau an Stickstoff getrieben werde. Ein zahlenmäßiger Beweis für diese Behauptung fehlt jedoch vollständig, wie überhaupt über die Intensität des Stickstoffabbaues in der Brache, die Pfeiffer als besonders hoch annimmt, bis jetzt nichts Zuverlässiges bekannt ist. Löhnis hält an seiner schon früher dargelegten Ansicht fest, daß die Rothamsteder Versuche nicht zu dem Pfeifferschen Ausspruche berechtigen: „Die schädlichen Folgen eines weitgehenden Raubbaues machen sich bei späterer Anwendung selbst großer Mengen von künstlichen Düngemitteln noch längere Zeit bemerkbar". Ein solcher Schluß könnte aus den Versuchen in Rothamsted nur dann gezogen werden, wenn „ausschließlich die in denselben Zeitperioden auf den verschieden gedüngten Parzellen erzielten Durchschnittserträge miteinander verglichen werden können". Es steht fest, daß infolge des andauernden Weizenbaues auf allen Parzellen ein Rückgang der Erträge stattgefunden hat, und ganz besonders aus diesem Grunde ist es nicht zulässig, verschiedene Perioden miteinander

1) Mitt. d. landw. Institute der Universität Breslau. Bd. III. p. 919.
2) Deutsche landw. Presse. 1904. p. 817.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu vergleichen. Pfeiffer hat nun aber für das „ausgeraubte" und seit 1884 wieder voll gedüngte Feld die nach 1884 erzielten Erträge mit den Ernten der Jahre 1852 bis 1863 — vor der Zeit des „Raubbaues" — in Parallele gesetzt. In der Tat geben die Ertragszahlen der Angabe Maerckers Recht, „daß es in diesem Falle gelungen ist, mit einem Schlage das „ausgeraubte" Feld ausschließlich mit Hilfe künstlicher Düngemittel wieder zu voller Ertragsfähigkeit zu bringen".

(In einem Nachwort bemerkt Pfeiffer, daß ihn die Löhnisschen Ausführungen nicht zu einer Aenderung seines Standpunktes veranlassen können. Da sich Löhnis nur gegen die große Schärfe wendet, mit welcher Pfeiffer den Stickstoffsammlern jegliche Bedeutung abspricht, im übrigen jedoch selbst vor einer Ueberschätzung der stickstoffsammelnden Kräfte des Bodens warnt und sogar die Ursachen anführt, welche die Tätigkeit der in Betracht kommenden Bodenorganismen beschränken, so ist dieses Beharren Pfeiffers auf seinem Standpunkte kaum verständlich. Außerdem sind sichere Beweise für eine nicht nur in Nährlösungen, sondern auch im Boden durch Organismentätigkeit bewirkte Stickstoffaufnahme erbracht worden, z. B. neuerdings in exakter Weise von Schneider[1]). Ref.) Vogel (Bromberg).

Handurin, Ueber die Einwirkung des kohlensauren Kalks auf die Entwickelung der gelben Lupine in Bleisandboden. (Journal für experimentelle Landwirtschaft. 1906. Heft 6.)

Die Einwirkung des kohlensauren Kalks auf die Lupine soll nach Verf. in einer Hemmung der Entwickelung der Wurzelknöllchen bestehen, die sich natürlich erst dann als schädlich geltend macht, wenn die Pflanze den ihr im Samen mit auf den Weg gegebenen, wie den leicht löslichen Stickstoff des Bodens verbraucht hat. (Bekanntlich hat vor Jahren Salfeld auch eine Schädigung der Knöllchenbakterien durch Kalkgaben annehmen zu sollen geglaubt, diese Ansicht aber später selbst als irrig bezeichnet.) Ehrenberg (Breslau).

Eberhart, Versuche über die Keimungsverhältnisse frischgeernteter Samen. (Fühlings landw. Ztg. 1906. p. 583.)

Es ist bekannt, daß die Keimung frischgeernteter Samen langsam und träge verläuft, und daß erst während der beim Lagern der Sämereien eintretenden Nachreife ein allmähliches Anwachsen der Keimfähigkeit erfolgt. Der Grund für die ungünstigen Keimungsresultate frischgeernteter Samen wird zum Teil in ihrem Wasserreichtum und ihrer Armut an Enzymen erblickt (Hotter), andererseits aber auch gerade im Gegenteil in ihrer Unfähigkeit, das zur Auflösung der Reservestoffe erforderliche Wasser in sich aufzunehmen (Hiltner).

Verf. hat nun zunächst den Einfluß des Keimapparates auf die Keimung solcher Samen studiert, und daher den Linhartschen, Königschen und Nobbeschen Keimapparat, sowie Fließpapier-, Sandkeimbetten und mit Erde gefüllte Blumentöpfe nebeneinander verwendet. Es zeigte sich, daß ein hoher Wassergehalt des Keimmediums die Keimfähigkeit günstig beeinflußte, ein Befund, der für das geringe Aneignungsvermögen für Wasser durch frische Samen spricht. Für die Ausübung der Samenkontrolle glaubt Verf. das Sandkeimbett und das Keimbett aus Fließpapier am meisten empfehlen zu können.

Wurden die Samen (Roggen) nach dem Vorgange von Hiltner

1) Landw. Jahrbücher. Bd. XXXV. Ergänzungsbd. IV. p. 63.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch Anstechen bis auf das Endosperm verletzt, dann wurden fast durchgehends höhere Zahlen für Keimungsenergie und Keimkraft gefunden wie bei Anwendung nicht präparierter Samen. Da auch durch Vorquellen die Keimziffern erhöht wurden, und eine starke Wasseraufnahme durch die angestochenen Samen direkt nachweisbar war, so fand also die Hiltnersche Ansicht volle Bestätigung. Eine Behandlung der Samen mit Aether verbesserte ebenfalls die Keimfähigkeit, wohl deshalb, weil dadurch die wachsartigen Ausscheidungen auf der Samenschale zur Auflösung kamen und so die Benetzbarkeit mit Wasser erhöht wurde.

Bezüglich der Zeit, nach welcher eine normale Keimfähigkeit erlangt wurde, verhielten sich die geprüften Samen ganz verschieden je nach dem Reifestadium, in dem sie geerntet wurden. Die Veränderungen, speziell in der Samenschale, die zu einer Erhöhung der Keimfähigkeit führen, treten also nicht allein bei der Nachreife, sondern schon während des Reifeprozesses selbst ein. Vogel (Bromberg).

Eberhart und **Metzner,** Die Wirkungen von Beschädigungen der Pflanzen auf Entwickelung und Ertrag. (Fühlings landw. Ztg. 1906. Heft 21.)

Die Untersuchungen der Verff. bilden die Fortsetzung früherer, von Kraus durchgeführter Versuche, welche ergeben hatten, daß durch Hagelschlag verursachte Wachstumsstörungen der Blütenstände die Produktion leichter und ungleichmäßiger Körner im Gefolge haben können. Auch Halmknickungen vor Eintritt der Blüte bewirkten Ertragsverminderung und Qualitätsverschlechterung bei Roggen.

Bei Standwellgerste trat eine zeitig (14. Juli) verursachte Verletzung deutlicher in die Erscheinung, als eine zu vorgerückterer Zeit (29. Juli) vorgenommene. Verletzungen der Halme hatten in letzterem Falle ungefähr eine Ertragsverminderung von 13 Proz. zur Folge. Der Schaden stieg, wenn noch Aehrenverkrümmungen hinzutraten, bis zu 20 Proz. Bei frühzeitiger Beschädigung der noch in der obersten Blattscheide eingeschlossenen Aehren trat ein Ausfall der Körnerernte bis zu 38,5 Proz. ein. Bei Sommerroggen ließen sich je nach dem Grade der Beschädigung, nach der Zeit der Verletzung und dem Ort der Verletzungsstelle Mindererträge von 21—60 Proz. des Korngewichts feststellen. Die Knickung des ersten Internodiums hat viel stärker vermindernd auf den Ertrag eingewirkt als die des zweiten.

Im Jahre 1902 konnte die Beschädigung durch am 1. Juli eingetretenen Hagel bei allen vier Getreidearten näher verfolgt werden. Bei Gerste betrug die Ertragsminderung durch Knickung ca. 47 Proz., durch Aehrenverkrümmung ca. 34 Proz. Auch bei Hafer bewirkten die durch den Hagel verursachten Halmknickungen und Halmbrüche erhebliche Ertragserniedrigungen, aber auch die Beschädigungen der Rispen selbst kamen in geringeren Erträgen zum Ausdruck. Der Schaden war aber geringer als bei der Gerste. Bei Roggen war ein ganz erheblicher Schaden angerichtet worden, der sich zwischen 42 und 62 Proz. bewegte. Bei Weizen trat der durch Verletzungen der Aehren bewirkte Schaden mehr in den Vordergrund und zwar deshalb, weil hier ein starker Ausschlag von Körnern stattgefunden hatte und nicht selten Aehrenteile ganz abgeschlagen waren. Vogel (Bromberg).

Schiller-Tietz, Die Empfänglichkeit der Kulturpflanzen für Schmarotzerkrankheiten. (Vierteljahrsschrift des Bayerischen Landwirtschaftsrates. 1906. Ergänzungsheft zu Heft 4.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verf. behandelt die Frage, ob die Pflanzenkrankheiten in neuerer Zeit häufiger geworden seien und kommt dabei zur Diskussion der beiden in der Pflanzenpathologie herrschenden Ansichten, von denen die eine, vorwiegend von den Theoretikern vertreten, die Ursache der Erkrankung mehr in dem betreffenden Parasiten, die andere, die der Praktiker, mehr in der Disposition der Pflanze für die Erkrankung zu sehen geneigt ist. Im Zusammenhang damit stellt Verf. die Ansicht auf, daß es von höchster Bedeutung für den Pflanzenschutz ist, die Nebenumstände, von denen die Ausbreitung der Pflanzenkrankheiten abhängt, genauer kennen zu lernen, auf die Vermeidung oder Beseitigung dieser Nebenumstände bedacht zu sein, und so auf eine Gesundheitspflege oder Hygiene der Pflanzen das Hauptgewicht zu legen.

Als Begründung für diese Ansichten werden verschiedene Beispiele von mittelbarer wie unmittelbarer Empfänglichkeit für Krankheiten angeführt, und dann weiter drei verschiedene, aber mannigfach ineinander übergehende Arten der Veranlagung für Pflanzenkrankheiten unterschieden:

1) die Rassen- oder Sortenanlage,
2) die individuelle Anlage,
3) die lokale Anlage, von der die Kulturanlage einen Teil bildet.

Zum Schluß empfiehlt Verf. besonders den Anbau nur solcher Sorten, die der betreffenden Gegend klimatisch angepaßt sind. Derartige Bestrebungen sollen durch ausgedehnte Neuzucht von Sorten, verbunden mit Saatgutwechsel, durch klimatologische Landesaufnahme u. s. w. gestützt werden.

(Die vielfach interessante Anregungen enthaltenden Ausführungen des Verf. entbehren leider nahezu völlig der Beweisführung für die ausgesprochenen Ansichten und so auch der Prüfungsunterlagen für die gemachten Vorschläge.) Ehrenberg (Breslau).

Slaus-Kantschieder, J., Ueber die von der k. k. landwirtschaftlichen Lehr- und Versuchsanstalt in Spalato im Jahre 1906 beobachteten Pflanzenkrankheiten und tierischen Schädiger. (Zeitschr. f. d. Landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1907. p. 251.)

Infolge amtlicher Konstatierung der Reblaus wurde der gesamte Bezirk von Spalato, mit Ausschluß der Insel Solta, als verseucht erklärt und die Rekonstruktion der Weingärten mit amerikanischen Reben eingeleitet. Diaspis pentagona wurde auf einigen Maulbeerbäumen zum ersten Male beobachtet. Im April trat auf Zwetschkenbäumen die Raupe des Blaukopfes (Diloba caerurocephala) auf, welche die jungen Knospen in ihrer Entwickelung arg schädigte. Zur selben Zeit wurden auf der Oberseite der Blätter der Birnbäume kleine Auftreibungen pockenartigen Aussehens wahrgenommen, die durch die Blattgallmilben (Phytoptus piri) verursacht wurden. Erheblichen Schaden richteten, wie im Vorjahre, die Larven und Insekten der Bupestris cariosa an Pfirsich-, Kirschen- und Pflaumenbäumen an, so daß sich mehrere Grundbesitzer weigerten, überhaupt Steinobstbäume zu pflanzen, weil dieselben, kaum ertragfähig geworden, infolge der verheerenden Wirkung obiger Parasiten an den Wurzeln abstarben. Mitte Juni richtete die Peronospora an Weinreben trotz eifrigen Schwefelns und Bespritzens erheblichen Schaden an, der dann durch das Auftreten des Oidium

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verstärkt wurde. Witterungsunbilden beeinflußten weiter ungünstig die Entwickelung der Trauben, so daß der Ertrag in Dalmatien gegenüber dem Vorjahre um beinahe die Hälfte zurückblieb. Die Oliven wurden durch die Olivenfliege (Dacus oleae) schwer beschädigt. Bezüglich dieses Schädlings verdient eine Beobachtung von Kolombatović weiter verfolgt zu werden. Auf Grund mehrjähriger Beobachtungen zieht er nämlich den Schluß, daß sämtliche Meisen-(Parus) Arten die größten Vertilger von Larven der Olivenfliege sind, so daß, wenn im Spätherbst viele Meisen in Olivenhainen zu treffen sind, die Oliven im nächsten Sommer von der Fliege verschont bleiben, und umgekehrt. Tatsächlich wurden im vorigen Winter wenige Meisen gesehen, während dieselben im Winter 1906 sehr zahlreich aufgetreten sind. Die diesjährige Ernte ist mißlungen und es bleibt zu konstatieren, wie die nächstjährige ausfallen wird. Stift (Wien).

Voglino, P., Sur lo sviluppo e sul parassitismo del Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderhold. (S.-A. aus Atti d. R. Accademia delle Science di Torino. Vol. XLI. 27 p.)

Mit Clasterosporium carpophilum sind außer den von Aderhold erwähnten Arten Helminthosporium Pruni Berk. et Curtis, Stigmina Briosiana Farn. und Coryneum Laurocerasi Prill. et Del. identisch.

Clasterosporium carpophilum, von übermäßiger Feuchtigkeit begünstigt, dringt in alle Teile einiger Prunus-Arten außer den Wurzeln ein. Im Blattgewebe und in unreifen Früchten breiten sich die Pilzmycelien nur wenig aus, bilden nur selten Sporen und bewirken das Abfallen der jungen Früchte. In reifen Früchten und in Zweigen, wo ihnen Nährstoffe reichlich zur Verfügung stehen, breiten sie sich viel schneller aus und fruktifizieren oder bilden Stromata und Cheimatostromata (überwinternde Hyphengeflechte).

Die dünnsten Hyphenästchen lösen die Mittellamellen des Parenchymgewebes auf, wickeln die Zellen um und senden ins Innere Saugfortsätze, werden aber vom Holzkörper aufgehalten; nur selten dringen sie in die oberflächlichsten Holzparenchymschichten ein. Im Cambium bewirken sie Gummifluß. Die Sporen besitzen ein chitinartiges Episporium, keimen erst 20 Tage nach der Freiwerdung und behalten ihre Keimkraft an trockenem Orte ein Jahr lang. Im Wasser lebt das Mycel nur kurze Zeit und stirbt beim Austrocknen ab. In Reinkultur werden Sporen innerhalb 2—3 Tagen bei guter Lüftung gebildet, bei spärlicher Luftzufuhr werden nur Stromata und Chlamydosporen erzeugt.

Das Eindringen des Parasiten kann durch Spaltöffnungen oder direkte Durchbohrung der Cuticula erfolgen. Kollenchymbildung erhöht die Widerstandskraft der Pflaumenfrüchte. Der Pilz verdankt den überwinternden Mycelien seine Verbreitung und erhält leicht besondere Eigenschaften durch Anpassung an bestimmte Nährpflanzen.

E. Pantanelli (Rom).

Appel, O., Beiträge zur Kenntnis der Fusarien und der von ihnen hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten. (Arbeiten aus der kaiserl. biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bd. V. 1906. p. 155—188. Mit 1 Tafel und 2 Figuren.)

Der erste Teil rührt aus der Feder Schikorras, der zweite aus der Hand Appels; jener Teil befaßt sich mit den Fusarium-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

krankheiten der Leguminosen, dieser mit allgemeinen Bemerkungen über den Zusammenhang und den Verlauf der sog. St. Johannis-krankheit der Erbsen und mit den Bekämpfungsmaßregeln.

Die genannte Krankheit ist eine Welkekrankheit und besitzt eine sehr starke und weite Verbreitung, aber sie wird häufig nicht erkannt, da absterbende Pflanzen mit den vom Fusarium befallenen eine sehr große Aehnlichkeit haben. Die Hauptinfektionsstelle ist der Hals der Wurzel und der unterste Stengelteil; durch Risse dringt der Pilz ins Innere des Wirtes; das Mycel verbreitet sich im Holz und in der Rinde, weiter oben aber nur in den Gefäßen, welche verstopft werden. Die Infektion wird durch noch nicht gekeimte Sporen eingeleitet, und zwar etwa im Juni. Die Impfversuche verliefen glatt und prompt. Nur in den erzeugten Kulturen wurden Mikro- und Makrokonidien und später Chlamydosporen nachgewiesen; die ersteren sind bei der natürlichen Infektion vorzugsweise tätig. Sklerotien und Perithecien wurden weder im Freien noch in den Kulturen bemerkt. Das Mycel kann Cellulose zerstören und sondert ein Enzym ab, das stark plasmolytisch wirkt. Wie dieses geschilderte Fusarium verhalten sich auch die anderen ähnlichen Fusarium-Krankheiten bei Leguminosen. Bezüglich der Bekämpfung der eingangs genannten Krankheit werden empfohlen: Anwendung von nur kräftigem, gut keimendem Saatgute, Verbrennung der befallenen Pflanzen beim ersten Konstatieren der Krankheit und auch der Stoppeln gleich nach der Ernte und endlich die richtige Einhaltung einer Fruchtfolge, bei der auf Leguminosen erst nach mehreren Jahren wieder solche Pflanzen angebaut werden sollen.

Matouschek (Reichenberg).

Wurth, Th., Ueber neue Rostpilze auf Galium. (Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Bern aus dem Jahre 1905. No. 1591—1608. Bern 1906. p. XX.)

Unter dem Namen Puccinia Galii wurden verschiedene auf Rubiaceen vorkommende Uredineen zusammengefaßt. Sie zeigen aber biologische Unterschiede; da überdies auch geringe, aber konstante morphologische Verschiedenheiten vorliegen, müssen folgende neue Arten auseinandergehalten werden:

Puccinia Galii silvatici Otth., Puccinia Asperulae odoratae Wurth, Pucc. Asperulae cynanchicae Wurth. Die untersuchte Gruppe weist in Bezug auf die Sporenfolge interessante Verhältnisse auf, da die Aecidiengeneration übersprungen werden kann. Uredo entsteht in solchen Fällen direkt am Pyknidenmycel, oft sogar aber vor den Pykniden. Inwiefern diese Sporenfolge durch äußere Faktoren bedingt wird, muß durch Versuche noch klargelegt werden.

Matouschek (Reichenberg).

Dietel, P., Monographie der Gattung Ravenelia Berk. (Beihefte zum Botanischen Centralblatt. Bd. XX. 1906. p. 343—413. Mit 2 Tafeln).

Verf. hat 1894 diese Gattung monographisch bereits bearbeitet; damals konnte er 31 Arten feststellen. In vorliegender neuer Bearbeitung beträgt die Specieszahl 81, wovon 7 neu sind.

Die Einleitung befaßt sich mit der Geschichte der Gattung und den morphologischen Merkmalen, wobei neues enthüllt wurde. Die auf Cassia lebenden Arten bringen Sporenlager direkt unter der Cuticula hervor, ein Merkmal, das anderen Uredineen fehlt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine merkwürdige Rolle spielen die Teleutosporen-Cysten: sie sind wahrscheinlich Wasserpeicher, welche die Aufgabe haben, die Luftfeuchtigkeit in den Sporenlagern nicht sobald zum Sinken zu bringen. Es gibt zwei Haupttypen dieser Cysten: die einen sind kugel- oder eiförmig und nicht miteinander vereinigt, die anderen sind schlauchförmig und der Länge nach miteinander verwachsen. Drei Typen können aufgestellt werden mit Rücksicht auf die Zahl und Anordnung der Einzelsporen in einem Teleutosporenköpfchen. Doch gibt es da Uebergänge in diesen Typen und am merkwürdigsten sind manche Arten dadurch, daß zweierlei Köpfchen von verschiedener Größe und diversem Baue bei ihnen auftreten. Die größte Zahl der Arten lebt auf Papilionaceen, sonst treten sie nur noch auf der Euphorbiaceengattung Phyllanthus auf. Alle Species sind nahe miteinander verwandt; Verf. verwirft eine Zerlegung dieser natürlichen Gattung in mehrere „Arten". — Von jeder Art wird die genaue Diagnose gegeben. — Viel brauchbares Material lieferte das Herbar des Berliner botanischen Museums. — Die Monographie ist vorzüglich gelungen. Matouschek (Reichenberg).

Dietel, P., Uredineen aus Japan. (Annales mycologici. Vol. V. 1907. No. 1. p. 70—77.)

Eine Fortsetzung der Zusammenstellungen japanischer Uredineen, die Verf. unter dem Titel „Uredineae japonicae I—VI" in Englers botanischen Jahrbüchern veröffentlicht hat. — Neu sind folgende Arten:

Uromyces durus Diet. (auf Allium nipponicum Fr. et Sav.);

Uromyces coronatus Yosh. (auf Zizania aquatica L., vielleicht nur eine Form des Uromyces ovalis Diet. auf Leersia oryzoides);

Uromyces Galii Diet. (auf Galium Aparine L.);

Puccinia Lychnidis-Miquelianae Diet. (auf Lychnis Miqueliana Rohr);

Aecidium Semiaquilegiae Diet. [auf Blättern von Semiaquilegia adoxoides (DC.)].

Viele systematische Details und solche, welche die Entwickelung der einzelnen Arten betreffen, finden sich zerstreut in der Arbeit.

Matouschek (Reichenberg).

Tranzschel, W., Kulturversuche mit Uredineen im Jahre 1906. (Annales Mycologici. Vol. V. 1907. No. 1. p. 32.)

1) Sporidien von Puccinia Poarum Niels. auf Poa nemoralis L. infizierten Tussilago Farfara, nicht aber Petasites officinalis.

2) Eine Puccinia auf Carex pallescens erwies sich als Pucc. Caricis (Schum.) Rebent., da sie auf Urtica dioica Aecidien entwickelte; die Aecidiosporen bildeten Uredo-Lager auf Carex pallescens, aber nicht auf Carex vaginata. Auf letzterer Carex-Art kommt Puccinia Caricis ebenfalls vor, aber die Aussaaten dieser letzteren Form auf Saussurea alpina (Nährpflanze der Aecidien von Pucc. vaginatae Juel) und auf Cirsium palustre blieben erfolglos, während einmal Aecidien auf Urtica dioica und Urt. magellanica erzogen wurden.

3) Puccinia Isiacae (Thüm.) Wint. erwies sich als höchst plurivor (19 Arten von 8 Pflanzenfamilien). Aecidien entwickelnd.

4) Die Aecidiosporen von Oxalis corniculata erzeugten (1905)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf Zea Mays Teleutosporen von Puccinia Maydis Bér. und diese wurden mit Erfolg auf Oxalis stricta und Ox. corniculata zur Aussaat gebracht. Matouschek (Reichenberg).

Appel, O. und **Bruck, W. F.**, Sclerotinia Libertiana Fuckel als Schädiger von Wurzelfrüchten. (Arbeiten aus der kaiserlichen biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. 1906. p. 189—203). Mit 10 Textfiguren.

Zu dem oben genannten Pilze gehört Botrytis cinerea nicht, was schon de Bary wußte. Konidien sind nicht bekannt geworden. Die Bekämpfung erstreckt sich daher auf die Vernichtung des Mycels, der Sklerotien und Apothecien und da wird folgendes empfohlen:

1) Die Rübe muß zuerst mit einer Erdschicht bedeckt werden. Darauf kann wohl eine Strohschicht gelegt werden.

2) Erkrankte Pflanzen müssen recht gründlich vernichtet werden. Erst einige Jahre später soll wieder Rüben gepflanzt werden auf demselben oder einem benachbarten Felde.

3) Wird die Rübe im Keller aufbewahrt, so muß nur gesundes Material verwendet werden, wobei vorher der Keller ausgeschwefelt werden muß. Alle organische Substanz, ja selbst Erde und Sand muß ganz entfernt werden. Zeigen sich dennoch während der Lagerzeit Pilznester, so müssen sie ausgehoben und in der Nähe von etwa $^1/_2$ m alle Rüben entfernt werden. Matouschek (Reichenberg).

Schorstein, Josef, Ueber Polyporus vaporarius (Pers.). (Annales mycologici. Vol. V. 1907. No. 1. p. 46—47. Mit 2 Abb.)

Unter alten eichenen Eisenbahnschwellen fand Verf. fast schwarze Rhizomorphen von größter Zugfestigkeit; auf Eichenholz gezüchtet, entspringen denselben Lufthyphen und später bilden sich Fruchtkörper, die dem obengenannten Pilze angehören. Die weißen fingerdicken Polster, die das Mycel an der unteren Fläche oder zwischen den Spalten der Bahnschwellen bildet, wurden (wie auch die Rhizomorphen) bisher übersehen. Die Polster lassen sich durch Chlorzinkjod nicht färben und bleiben jahrelang gelblichweiß, trocken und lederartig filzig. Die Rhizomorphen spielen bei der Holzzerstörung eine bedeutende Rolle, die Mycelpolster aber sind als degenerierte Fruchtkörperanlagen anzusehen. Die Abbildungen zeigen Rhizomorphen mit austreibenden Lufthyphen und Fruchtkörperbildung. Matouschek (Reichenberg).

Appel, O., Einige Versuche über die Möglichkeit eines parasitären Auftretens von Merulius lacrymans. (Arbeiten aus der kaiserl. biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. 1906. p. 204—206. Mit 2 Figuren.)

Thuja, Kiefer, Tanne und Fichte (durchwegs Topfpflanzen) wurden auf mannigfache Art verletzt und mit dem Mycel von Merulius lacrymans infiziert. Wie v. Tubeuf, so konnte auch Verf. nie positive Resultate erhalten. Matouschek (Reichenberg).

Hecke, Kulturversuche mit Viscum album. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft. 1907. Heft 4.)

Verf. berichtet von seinen Versuchen über die Pflanzen, welche der Mistel als Wirt zu dienen vermögen, vorläufig, daß die Laub- und Nadelholzmistel sich noch am konstantesten durch die Zahl der Keimlinge eines

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Samens unterscheidet, wovon die Nadelholzmistel stets nur einen besitzt. Durch Aussaatversuche wurde nun weiter festgestellt, daß Apfelmistel auf anderen Pflanzen, z. B. auf Pappel, leicht anwuchs, dagegen auf der Tanne nur eine sehr beschränkte Entwickelung erreichte. Es gelang niemals, sie hier voll aufzuerziehen, das Absterben der Keimlinge erfolgte aber verhältnismäßig spät, bei weitem nicht so schnell wie auf totem Substrat. Es konnte weiter durch mikroskopische Untersuchung festgestellt werden, daß sich aus der Haftscheibe des Mistelpflänzchens wohl der primäre Senker entwickelt hatte, auch in das Rindenparenchym eingedrungen war, an weiterem Vordringen jedoch durch die Bildung einer Korklage von seiten der Nährpflanze gehindert wurde. Es kann also das Ausbleiben des Parasitismus nicht an der Unfähigkeit der Mistel, von der Pflanze ihren Nährstoffbedarf zu decken, liegen, sondern an der Abwehr durch die Pflanze.

Auf die Frage nach der Spezialisierung der Mistel geben die Resultate vorläufig die Antwort, daß tatsächlich eine solche vorliegt, wenn auch damit noch nicht gesagt sei, daß sie eine völlig strenge, und an verschiedenen Oertlichkeiten gleich weit fortgeschritten ist.

Ehrenberg (Breslau).

Dietrich, E., Ueber den Hausschwamm. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 1907. Bd. LVI. Heft 3. p. 516.)

Falck, R., Erwiderung auf vorstehende Publikation. (Ibid. p. 520.)

Dietrich unterzieht die in derselben Zeitschrift Bd. LV erschienene Arbeit von R. Falck über den Hausschwamm vom bautechnischen Standpunkt einer Besprechung. Bei den Prozessen über schwammkranke Häuser könne auf den mikroskopischen Nachweis von Sporen oder Mycelien des Hausschwammes kein richterliches Urteil sich gründen. Für Handel und Verkehr habe nur die Frage Bedeutung, welcher bauliche Schaden durch die pflanzliche Entwickelung der Schwammsporen entstanden sei und welche Kosten aufzuwenden seien, um das Haus in einen normalen, seinem Alter entsprechenden Zustand zurückzuführen. Unter normalen Verhältnissen trocknen die in einem Neubau entwickelten Schwammfäden im Verlauf des ersten Jahres ein und werden latent; das geschehe mehr durch Entziehung der Feuchtigkeit als infolge Zuführung von Wärme. Zu widersprechen sei der Behauptung, die Art der Bauausführung sei für die Gefahr der Schwammbildung von sekundärer Bedeutung; durch Anwendung trockener Bauhölzer, trockenen Füllmaterials für die Zwischendecken, durch langsame Bauausführung, sorgliche Lüftung und andere Maßnamen könne Schwammerkrankung vermieden werden. Die von Falck vorgeschlagene Durchheizung der fertigen Gebäude bis auf 40° C sei sehr schwer durchzuführen und beeinträchtige andere Bauarbeiten. Bei Neubau von Häusern solle man nur Holz verwenden, welches 1 Jahr im Schuppen luftig gestapelt war und die gesetzliche Gewährleistungsfrist für Schwamm sollte statt auf 1 Jahr auf 3 Jahre bemessen werden.

Falck hält seine Angaben aufrecht und verweist auf seine in diesem Jahr bei S. Hirzel in Leipzig erscheinende Monographie über den echten Hausschwamm.

Schill (Dresden).

Traverso, J. B., Flora italica cryptogama. Pars I. Fungi. Vol. II. Fasc. 1. gr. 8. 1906. 352 pp. 68 Fig.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es muß mit lebhafter Freude begrüßt werden, daß nunmehr auch die Kryptogamenflora Italiens in der groß angelegten „Flora italica cryptogama“ auf Veranlassung der „Società Botanica Italiana“ eine eigene Bearbeitung erfahren wird.

In dem vorliegenden I. Fascikel des II. Bandes werden die Pyrenomyceten zum Teil behandelt. Verf. gibt eine Erläuterung zu den von ihm angewandten Termini technici und geht dann sogleich zum systematischen Teile über. Die Diagnosen der im Gebiete vorkommenden Arten werden ausführlich gegeben; jede Gattung wird durch Textfiguren illustriert.

Das Werk wird sich für den Systematiker als unentbehrlich erweisen; wir wünschen demselben ein rüstiges Fortschreiten.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Vosseler, J., Die Feinde der Kokospalme. (Der Pflanzer, Tanga. Jahrg. I. p. 248—256; p. 257—264.)

Als Feinde der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika werden genannt: Hundsaffen, Ratten, Eichhörnchen (Sciurus cepapi A. Sm.). Die Affen machen sich an die reifen Nüsse, die Ratten nagen junge Nüsse an. Ob die Eichhörnchen schaden, konnte Verf. noch nicht direkt konstatieren; anderwärts, in den Federated Malay States, sind sie jedenfalls sehr schädlich. Ratten sowie Eichhörnchen kann man durch breite glatte Blechringe, die man an den Stamm nagelt, am Erklettern der Bäume hindern.

Schlimmer sind die von den Nashornkäfern Oryctes boa F. und monoceros Ol., sowie dem Palmbohrer Rhynchophorus phoenicis F. angerichteten Verheerungen. Ferner sind schädlich oder als Schädlinge verdächtig der Riesenschnellkäfer Tetralobus flabellicornis L., Schildläuse, Termiten, große braune Ameisen, Wanderheuschrecken, sowie eine an der Küste Deutsch-Ostafrikas überall gemeine Assel. Die beiden Oryctes-Arten und der Rhynchophorus kommen häufig neben- oder nacheinander vor. Doch sind sie auch im Larvenzustande leicht zu unterscheiden. Die Oryctes-Larve ist engerlingähnlich, lebt in Dung, in verrottenden Pflanzenresten, in der Erde. Sie benagt die Wurzeln, die Herzblätter und die weichen oberen Partieen des Palmstammes. Puppengehäuse der Oryctes elliptisch. Der ausgebildete Käfer ist ein Nachttier, er fliegt an die Krone der Bäume, frißt die jungen Blätter, auch wohl die Blattstiele an, oder bohrt sich bei den jüngsten Blattachseln ein. Aus den Wunden der Palme ergießen sich dann vielfach Saftflüsse, die wieder andere Schädlinge anlocken. Die Eiablage erfolgt gerade an die zartesten, jüngsten Gewebe, und die auskriechenden Larven zerstören dann am Gipfeltrieb, was der Käfer verschont hatte. Dann ist die Baumkrone verloren, die Palme geht ein. Als Bekämpfungsmittel empfiehlt Vosseler u. a. Herausschneiden des Insekts oder Herausziehen mit einem Drahthaken, Einspritzen von Schwefelkohlenstoff in die Bohrlöcher und Zupfropfen mit Lehm, ferner Einstreuen von Sand in die Blattachseln des Gipfeltriebes. Am besten entfernt man alle verrottenden Pflanzenreste, Mulm u. dergl., und alles, was den Larven zur Nahrung oder zum Aufenthalt dienen kann, möglichst aus der Kultur, verbrennt die toten Palmstämme und andere Stumpen faulen Holzes und hält überhaupt den Boden gründlich rein. Man entzieht so den Larven die Existenzmittel.

Als der gefährlichste Palmschädling gilt der Palmbohrer, Rhyn-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

chophorus phoenicis F. Er wird ganz besonders durch die von Oryctes veranlaßten Saftflüsse angelockt. Er legt seine Eier mit Vorliebe an Wundstellen der Palme, aber auch in den Oryctes-Bohrlöchern ab. Die auskriechenden Larven bohren dann abwärts, zerstören den Gipfel und können den Stamm derartig durchlöchern, daß er bricht. Die Bekämpfungsmaßnahmen gegen die Larven des Palmbohrers sind ähnliche wie die gegen die Nashornkäfer. Der ausgewachsene geflügelte Käfer, der nachts süßen gärenden Saftflüssen nachgeht, kann durch ausgestellte, entsprechend zubereitete Flüssigkeit geködert werden. Die mit Vorliebe bei den Saftflußstellen erfolgende Eiablage kann man durch Bestreichen mit Teer und durch Verstopfen mit teergetränktem Material verhindern. Man kann aber auch einzelne Palmen als Fangbäume benutzen, hier die Eiablage begünstigen und sie dann vernichten.

Sowohl der Palmbohrer wie die beiden Nashornkäfer sind ortseingesessene Arten, die außer auf den Palmen auch auf wilden Pflanzen leben und wahrscheinlich lange vor der Einführung der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika heimisch waren. Ihre Biologie ist leider erst sehr lückenhaft bekannt, und weitere Beobachtungen unter Beteiligung auch der Pflanzer sind dringend erwünscht.

Th. Kuhlgatz (Berlin).

Wildeman, E. de, Les maladies du caféier au Congo indépendant. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences de Paris. T. CXLII. 1906. p. 1093—1094.)

Diese Mitteilung beschäftigt sich mit einigen Pilzen, die im belgischen Kongostaate auf den Kaffeebäumen wuchern und von Herrn Laurent in Hinsicht auf ihre botanische und landwirtschaftliche Bedeutung untersucht worden sind.

Zwei Pilze, die eine wirkliche Gefahr sind, Pellicularia koleroga und Hemileia vastatrix, sind am Kongo an denjenigen Stellen beobachtet worden, wo der Kaffeebaum viel Schatten hat. Auch andere Pilze, die der Wissenschaft unbekannt waren und den Kaffeebäumen scheinbar weniger gefährlich sind, sind noch entdeckt worden. Erwähnenswert sind folgende Arten: Septobasidium coffeicola, Paranectria Wildemaniana, Microthyrium Laurentiorum, M. Leopoldvilleanum, Diplodia Coffeae, Helminthoparium ubangiensis, Spegazzinia Coffeae. Alle diese Pilze sind von Prof. Hennings-Berlin untersucht worden. Houard (Paris).

Delacroix, Georges, Travaux de la Station de Pathologie végétale. (Bulletin de la Société mycologique de France. T. XXI. p. 168—204. Avec 15 Fig.)

Verf. beschreibt zunächst ausführlicher zwei bereits bekannte Parasiten, die in Frankreich schädlich aufgetreten sind, nämlich Septoria Cucurbitacearum Sacc. auf Melonenblättern und S. Lycopersici Speg. auf Tomatenblättern, und geht ferner auf einen Pilz ein, der sich auf den Blättern von Phoenix canariensis in Europa weit zu verbreiten scheint; es ist das durch die großen Konidien ausgezeichnete Exosporium palmivorum Sacc., das Verf. aus dem Seealpengebiet erhielt.

Weiter werden mehrere neue schädliche Pilze beschrieben: Fusicoccum Amygdali auf den Zweigen von Amygdalus communis, Phoma oleandrina auf den Blättern und oberen Stengelteilen des Oleanders, beide in Frankreich beobachtet, ferner Colletotrichum

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

brachytrichum auf Blättern des Cacaobaumes in Trinidad. Gloeosporium Mangiferae P. Henn. erhielt Verf. von den Antillen. Weiter sind neu: Gloeosporium Kicksiae auf Blättern von Kicksia africana, Colletotrichum paucipilum auf Blättern von Landolphia Klainii vom Congo, Gloeosporium rhodospermum auf Blättern kultivierter Sterculia acuminata in Gabun, Glomerella Artocarpi auf Blättern von Artocarpus incisa, Diplodia perseana auf den Kotyledonen von Persea gratissima, Phyllosticta Nephelii auf Blättern von Nephelium lappaceum und Durio Zibethinus, Ph. Cinnamomi auf Blättern von Cinnamomum zeylanicum. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Delacroix, G., Sur une maladie de la Pomme de terre produite par „Bacillus phytophthorus". (Compt. rend. de l'Acad. des sciences de Paris. T. CXLIII. 1906. p. 383—384.)

Diese Krankheit der Kartoffel, die auf bakterieller Ursache beruht, ist in Deutschland, England, Dänemark, Holland und Rußland häufig. Vor 2 Jahren kannte man in Frankreich von ihr noch nichts und erst durch die von der pflanzenpathologischen Station in Paris angestellten Untersuchungen hat man das noch wenig verbreitete Vorkommen dieser Krankheit feststellen können.

Diese Krankheit, die sich auf den Kartoffeln während der Wachstumsperiode der Pflanze entwickelt, hat viele Aehnlichkeiten mit jener Erkrankung, die der Verf. unter dem Namen Bräune beschrieben hatte, und die durch den Bacillus solanincola verursacht wird.

Es ist von Interesse, eine Differentialdiagnose für diese beiden Erkrankungen anzugeben: Die Zeit der Entwickelung scheint für beide pathologische Erscheinungen nicht dieselbe zu sein. Die durch den Bacillus phytophthorus hervorgerufene Krankheit tritt deutlich früher in Erscheinung als die des Bacillus solanincola; erstere ist eine Erkrankung des Frühlings, letztere des Hochsommers oder des Herbstanfangs. Diese Zeiten schwanken scheinbar je nach den verschiedenen Arten.

Die äußeren Erscheinungen sind so ähnlich, daß man sie zur Unterscheidung der beiden Krankheitsformen nicht wird heranziehen können. In geringerem Maße trifft dies auch für die bei der mikroskopischen Untersuchung gewonnenen Bilder zu. In beiden Fällen ist der Mikroorganismus nämlich immer von einem Fusarium-Mycel begleitet; dieses Mycel ist jedoch nicht der Parasit und tritt nur sekundär auf; man findet es auf den Pflanzen nicht, solange die Krankheit noch im ersten Stadium ist.

Schließlich reagiert die Pflanze bei beiden Arten bakterieller Erkrankung in gleicher Weise mit Bildung von Füllzellen und Wundharz; beides entsteht auf Kosten des um die Gefäße herum liegenden lebenden Holzparenchyms.

Die Identifizierung der Bakterien bleibt also als einziges Mittel für eine genaue Krankheitsdiagnose übrig. Der Bacillus phytophthorus ist eine kurze Bakterie, fast ein Coccus, der Gelatine schnell verflüssigt; dagegen ist der Bacillus solanincola ein Stäbchen, das Gelatine nicht verflüssigt.

Für die Praxis haben diese Tatsachen keinen wesentlichen Wert, da die Prophylaxe der Krankheit in beiden Fällen dieselbe ist.

Houard (Paris).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kauffman, C. H., Cortinarius asa mycorrhiza-producing fungus. (Botanical Gazette. Vol. XLII. 1906. p. 208—214. Mit 1 Figur im Texte).

Cortinarius-Arten bilden Mycorrhiza, z. B. C. cinnabarinus und C. fulmineus auf Quercus-Wurzeln; C. armillatus auf Tsuga canadensis; C. squamulosus, C. bolaris, C. caerulescens und C. callisteus auf Betula; C. rubipes n. sp. auf Carya, Quercus, Crataegus und Celastrus. Diese neue Art wurde im Dep. Michigan zwischen abgefallenen Blättern und Humus gefunden.

Matouschek (Reichenberg).

Salmon, Der Ausbruch des amerikanischen Stachelbeer-Meltaus in England. (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. 1907. Heft 1.)

Verf. gibt eine Schilderung der Schwierigkeiten und des bisher absoluten Versagens des staatlichen Sicherheitsdienstes gegen die neu in Großbritannien eingeschleppte Krankheit des Stachelbeer-Meltaues, um gleichzeitig im Anschluß hieran die Notwendigkeit der Schaffung eines internationalen Bureaus für Pflanzenpathologie in Verbindung mit einem internationalen landwirtschaftlichen Institut festzustellen. In einer Nachschrift Sorauers pflichtet dieser dem Verf. bis auf die staatlichen Absperrungsmaßregeln und Einfuhrverbote, von denen er sich keinen Erfolg verspricht, völlig bei, und empfiehlt besonders einen allgemeinen Meldedienst auf Grund internationaler Vereinbarungen, sowie die Sammlung der alljährlichen Erfahrungen über das Auftreten einer bestimmten Krankheit in allen Kulturländern mit verwandten Klimaten, und vergleichende Prüfung der Sorten, welche sich als besonders widerstandsfähig in einzelnen Oertlichkeiten erwiesen haben.

Ehrenberg (Breslau).

Laubert, R., Ueber eine neue Erkrankung des Rettichs und den dabei auftretenden endophyten Pilzen. (Arbeiten aus der kais. biolog. Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. 1906. p. 212.)

Manche Rettiche haben auf der Oberfläche viele schwärzliche Flecke, die vertieft und rundlich sind und höchstens 4 mm im Diameter haben. Von diesen gehen durch das gesunde Fleisch unregelmäßig gewundene schwärzliche Adern aus, zwischen denen Schläuche liegen, von denen keulenförmige kurze Seitenzweige abgehen. Es sind dies die Mycelien des Pilzes, der aber kaum mit Peronospora parasitica identisch ist. Leider konnte die weitere Entwickelung des Pilzes und der Krankheit nicht verfolgt werden. Matouschek (Reichenberg).

Catoni, G., I geli d'inverno e le viti. 8°. 76 p. mit 4 Tafeln und 31 Textfig. Rovereto (U. Grandi) 1906.

Als interessante Beobachtung des Verf. mag hervorgehoben werden, daß in gefrorenen Weinknoten das Diaphragma dieselbe bräunliche Farbe wie das Mark und einige Längsrisse zeigt. Im Frühsommer verschmälert sich das gebräunte Gewebe bis zum völligen Verschwinden; die Risse werden gleichfalls erfüllt und zum Verschwinden gebracht. Auf dem gefrorenen Weinstock sieht man tiefe Längsfurchen. Der Blutungssaft enthält pro mille:

	Extraktstoffe	Zucker	Freie Säure als H_2SO_4	Asche
Aus gefrorenen Vernaccia-Stöcken:	3,80 g	2,12 g	0,14 g	1,16 g
„ gesunden „ „	1,95 „	0,91 „	0,18 „	0,70 „

E. Pantanelli (Rom).

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hollrung, M., Einige Bemerkungen über die während des Jahres 1906 in Deutschland an den Zuckerrüben beobachteten Erkrankungen. (Zeitschr. d. Vereins d. dtsch. Zuckerindustrie. 1907. p. 519.)

Das Jahr 1906 kann für den Zuckerrübenbau als ein günstiges bezeichnet werden, insofern als Krankheiten im allgemeinen erhebliche Beeinträchtigungen nicht hervorgerufen haben, und ist in der Hauptsache diese erfreuliche Tatsache auf den günstigen Gang der Witterung zurückzuführen.

1. Krankheiten anorganogener Natur.

a) Chemische Einflüsse.

Das Calciumdicyanamid, der sogenannte Luftstickstoff, hat im Sandboden eine vollkommene Wachstumshemmung der jungen Pflänzchen bewirkt, während im Lößboden keinerlei üble Einwirkungen bemerkbar waren, wahrscheinlich aus dem Grunde, weil im Lößboden infolge der reichhaltigeren Bakterienflora die Umsetzung des Dicyanamids sofort in ausreichendem Umfange stattfindet, während in dem bakterienärmeren Sandboden die Verhältnisse weniger günstig liegen. Ganz plötzlich, und zwar im Verlaufe einer Nacht, wurden Rübensamenkulturen durch die Immissionen eines Hüttenwerkes vergiftet, was sich durch ein völliges Ausbleichen der interkostalen Blattfläche in scharf abgesetzten Figuren äußerte; eigentümlicherweise hatten gewöhnliche Zuckerrüben in nächster Nachbarschaft nicht gelitten. Eine Erklärung dieses verschiedenen Verhaltens liegt darin, daß bei den Samenrübenstauden die Blätter eine mehr horizontale, zum Auffangen von Tau und giftigen Rauchgasen besser geeignete Stellung besitzen als Fabriksrüben mit ihrem senkrecht anstrebenden Kraute. Ein zweiter Fall von Rauchschaden ereignete sich in unmittelbarer Nachbarschaft zweier Bohrtürme, zu deren Betriebe eine stark schwefelhaltige Kohle verwendet wurde; hierbei zeigten die Blätter eine nach oben gerichtete Kräuselung, sehr häufig war auch ein vollständiges Zusammenfalten der beiden Blatthälften um die Mittelrippe zu beobachten. Perchloratschäden, sowie Vergiftungen durch Rhodansalze, wie diese im schwefelsauren Ammoniak zuweilen enthalten sind, haben sich nicht bemerkbar gemacht.

b) Physikalische Einflüsse.

Eine erhebliche Rolle spielt nach wie vor der Wurzelbrand in seinen verschiedenen Formen und Anlässen, wo ungünstige Bodenverhältnisse unter Umständen von besonderem Einflusse sind. Auch absoluter Kalkmangel ließ sich in einigen Fällen als Ursache vollständigen Vergehens der jungen Rüben ermitteln. Eine dritte Gruppe von Wurzelbrand war auf die so außerordentlich häufigen Gewitterschlagregen zurückzuführen, durch welche bestimmte Böden stark verschlemmt wurden; in solchen Fällen kann nur eine mechanische Oeffnung des Bodens durch die Hacke oder die Walze vor weiteren Beschädigungen der Rübenpflänzchen bewahren. Bezüglich der Ursachen des Gürtelschorfes hat Verf. seinerzeit darauf hingewiesen, daß diese Krankheit als ein Wurzelbrand der im Wachstum bereits vorgeschrittenen Rübe aufzufassen und hinsichtlich seiner Entstehung auf ganz gleiche oder doch ähnliche Umstände zurückzuführen ist; insbesondere hat er sich gegen tierische oder pflanzliche Parasiten als primären Anlaß ausgesprochen. Durch die Umstände, unter welchen 1906 Gürtelschorf (verhältnismäßig häufig) aufgetreten ist, wird diese Auffassung vollauf bestätigt, indem

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bodenverhältnisse ungünstiger Natur (Verschlemmung, ungleichmäßige Beschaffenheit des Ackergrundes) eine wesentliche Rolle gespielt haben. Die Mindererträge beliefen sich auf 80—100 Zentner per Morgen, wobei gleichzeitig auch der Zuckerertrag der brandigen Rüben geringer war; bemerkenswerterweise waren die Blätter der betreffenden Rüben gesund. Die seinerzeit vom Verf. als „Dauerwurzelbrand“ bezeichnete Krankheitsform der Zuckerrübenwurzel hält er für das Anfangsstadium des sogenannten Gürtelschorfes. Zweckmäßig würde man unterscheiden: 1) Wurzelbrand der jungen Rübe, Zwirn, schwarze Beine. 2) Wurzelbrand der älteren Rübe: a) die leichte Form, welche sich auf eine Alteration der Wurzelrinde beschränkt, Dauerwurzelbrand; b) die schwere Form, welche in einer tiefer greifenden, trockenen Zersetzung der Rübenwurzel besteht, Gürtelbrand. Vom Rübenschorf unterscheiden sich alle diese Brandformen dadurch, daß sie die Rübe in ihrem ganzen Umfange in Mitleidenschaft ziehen, während beim Rübenschorf = Trockenfäule = Phoma betae-Wirkung nach Frank die Wurzelrille und ihre Nachbarschaft, ebenso wie der untere Teil der Rüben von der Krankheit verschont bleiben. Höchst wahrscheinlich ist durch die Wucht eines kräftigen Gewitterregens die Erscheinung der „Silberglänzigkeit“ hervorgerufen worden, die sich dadurch kennzeichnet, daß die Blätter zunächst eine Knickung der Mittelrippe zeigen und der Silberglanz der Unterseite an der oberen, umgeknickten Blatthälfte auffällig ist. Durch den Wind wird das Blatt nach oben umgeklappt und so die Unterseite der Sonne zugekehrt; unter der Einwirkung der letzteren geht eine Trennung der Blattepidermis von dem darunter gelegenen Parenchymgewebe und die Infiltration des hierbei entstandenen Hohlraumes mit Luft vor sich, welch letztere dann den Silberglanz der Blätter, eine harmlose Erscheinung, verursacht.

2. Krankheiten organogener Natur.

a) Pflanzliche Krankheitserreger.

Der Rübenrost (Uromyces betae) war ziemlich vereinzelt aufgetreten; in einem Falle lag es nahe, das Auftreten des Pilzes mit der starken Stickstoffanreicherung des Bodens durch den mehrjährigen Luzerneanbau in Zusammenhang zu bringen, welche zu einer Verweichlichung der Blattgewebe führt, die sehr wohl mit einer Verminderung der Resistenzfähigkeit verbunden sein kann. Die Kräuselkrankheit (Peronospora Schachtii) hat in einzelnen Fällen Schäden bis zu 10 Proz. gebracht. Ein Rübenbauer hat das Auftreten dieser Krankheit mit Bestimmtheit auf die Vorfrucht (Kartoffel) zurückgeführt. Die Rotfäule (Rhizoctonia violacea) bietet keinen Anlaß zu besonderen Bemerkungen.

b) Tierische Schädiger.

Weitgehende Schäden durch Insekten und sonstige Vertreter der niederen Tierwelt waren nicht zu beobachten. Vereinzelt wurden der Lappenrüßler (Otiorhynchus ligustici), die Gartenhaarmücke (Bibio hortulans), Aaskäferlarven (Silpha spec.) und Blattläuse (Aphis) beobachtet. Rübennematoden (Heterodera Schachtii) waren mehrfach zu verzeichnen, haben aber nur selten die mittlere Linie überschritten. Erneuerte Versuche, diesen Schädigungen durch eine Kalidüngung zu steuern, haben, wie früher schon, keine befriedigenden Ergebnisse gezeitigt. Stift (Wien).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schander, R., Die im Jahre 1906 in den Provinzen Posen und Westpreußen beobachteten Krankheiten und Schädlinge der Rübe. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1907. p. 113.)

Wurzelbrand. In einigen Fällen konnte Phoma betae Frank nachgewiesen werden, in anderen Fällen war ein Parasit nicht nachweisbar. Die Ausbreitung der nicht besorgniserregenden Krankheit war meistens eine nesterweise. In den meisten Fällen handelte es sich um Böden, die stark zur Verschlemmung neigten, wodurch die alte Ansicht bestätigt wurde, daß die Bodenart als wesentliche Ursache des Wurzelbrandes anzusehen ist; in derartigen Böden erleiden die Pflanzen nicht selten eine Prädisposition für die Krankheit, und erst solche Pflanzen, deren Entwickelung eine anormale ist, vermögen von den Pilzen besiedelt zu werden. Trockenheit und andauernd kalte Witterung wirken in derselben Richtung, ebenso sind auch Pflanzen von minderwertigem, schlecht getrocknetem, geringe Keimungsenergie besitzendem Saatgut mehr für die Krankheit disponiert als Pflanzen aus in jeder Beziehung erstklassigem Saatgut. Auf schwererem, lockerem und ebenso auf sehr humushaltigem Boden (Moorboden) wurde die Krankheit nicht beobachtet, dagegen aber auf Feldern nach Bearbeitung mit dem Dampfpflug. Als Gegenmittel gegen die Krankheit wird empfohlen: Sorgfältige Bearbeitung des Bodens, um demselben eine möglichst lockere Krümelstruktur zu geben, Verbesserung der Fehlstellen durch Auffahren von Humus- oder Lehmboden, starke Kalkdüngung und öfteres Hacken. Herz- und Trockenfäule wurde öfters konstatiert, wobei die Verluste sehr schwankten. Auf moorigen Böden traten bei Futterrüben Verluste bis zu 90 Proz. auf. Nicht ohne Einfluß zeigte sich die Vorfrucht, was darauf zurückzuführen ist, daß die Vorfrüchte das Feld in einem ganz verschiedenen physikalischen Zustande zurücklassen, so daß dann die Bedingung für das Auftreten oder das Ausbleiben der Krankheit gegeben erscheint. Die Einführung der Dampfkultur hat dem Auftreten entgegengewirkt. Die auf kranken Rüben sich vorfindenden Organismen (Pykniden von Phoma betae, Sporen von Fusarium, Bakterien) sind nur als sekundäre Ursache der Krankheit anzusehen, da die eigentliche Ursache in einer durch ungünstige Ernährung und Wassermangel verursachten Disposition der Rüben zu suchen ist. Kalkdüngung befördert auf leichteren Böden die Empfänglichkeit der Pflanzen für die Krankheit, jedenfalls dadurch, daß der Kalk ein stärkeres Austrocknen des Bodens im Sommer verursacht. Zur Bekämpfung der Krankheit wird empfohlen: Vergrößerung der wasserhaltenden Kraft des Bodens dnrch geeignete Vorfrucht, Düngung und Bodenbearbeitung, insbesondere durch Einführung der Tiefkultur. Der Wurzeltöter oder die Rotfäule (Rhizoctonia violacea Tul.) wurde nur sporadisch beobachtet. Die Krankheit ging vornehmlich von der Schwanzspitze aus. Zur Bekämpfung wurde ein sorgfältiges Entfernen aller vom Pilz ergriffenen Rüben, starke Düngung des Bodens mit Kalk, Herbstbearbeitung und geeignete Vorfrucht empfohlen. Der Rübenschorf, Rübenrost (Uromyces betae Tul.) und Blattfleckenkrankheiten (vornehmlich Cercospora beticola Sacc.) verursachten nur geringe oder unbedeutende Schäden. Besonders häufig und ziemlich schädlich traten die Drahtwürmer auf, deren Fraßkanäle an älteren Rüben dann Eingangspforten für die Organismen der Trockenfäule wurden. Erdraupen (Agrotis segetum) und Maden der Kohlschnake (Tipula oleratia) verursachten keinen erheblichen Schaden, hingegen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aber Tausendfüßler, welche stellenweise eine zweite Aussaat notwendig machten. Die Rübennematode (Heterodera Schachtii) verbreitet sich im Osten Deutschlands immer weiter und betrug der Schaden 40—75 Proz. Bekämpfungsmaßregeln werden bis jetzt wenig durchgeführt. Günstig erwies sich zur Verringerung der Nematoden ein mehrjähriger Anbau von Luzerne. Eine Kainitdüngung (10 Zentner pro Morgen) blieb auf die Menge der Schädlinge ohne Einfluß, ebenso auch ein von Thormeyer empfohlenes Bekämpfungsmittel. Die Runkelfliege (Anthomyia conformis) wurde des öfteren beobachtet, doch war der Schaden kein besonderer, was auch bei dem Auftreten der Rübenzikade (Chlorita flavescens) und Blattläusen (Aphis spec.) der Fall war. Die Mäuseplage war wohl eine sehr große, doch bei Rüben weniger hervortretend. Schoßrüben traten an vielen Stellen, doch nicht in großen Mengen auf. Spätere Saaten zeigten weniger Schoßrüben als die früheren, und dürfte die Ursache darin gelegen sein, daß die früheren Saaten einige Tage unter ungünstigen Witterungsverhältnissen zu leiden hatten. Inwieweit die Art des Saatgutes für diese Erscheinung von Einfluß ist, konnte bisher nicht ermittelt werden.

Stift (Wien).

Sorauer, Der Rosenkrebs. (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. 1907. Heft 1.)

Verf. berichtet eingehend über eine Erscheinung, mit der wir durch die Kultur der neueren Rankrosen, besonders der Polyantha-Form (Crimson-Rambler) bekannt geworden sind, und die in das Gebiet der Krebswucherungen fällt. Wie bei allen Krebswucherungen, finden wir auch hier diejenigen Regionen der Achse bevorzugt, an welchen Zweige entspringen, und an diesen selbst die Basis häufig stark verdickt oder mit blumenkohlartigen Wucherungen versehen. Verf. geht dann nach näherer Schilderung dieser Wucherungen eingehend auf ihre Entstehungsgeschichte ein, weist auf den bei verschiedenen Wundheilungsformen auftretenden Vorgang hin, daß der bloßgelegte Splintkörper sowohl wie der abgehobene Rindenteil neue Gewebe bilden, und löst damit endlich die anfangs wirr erscheinende Wucherung des Rosenkrebses in eine Kombination der natürlichen, bei ähnlichen Wundformen eintretenden Heilungsvorgänge auf. Das Abweichende ist eben nur die sonst nicht zu beobachtende Ueppigkeit der Ueberwallungsgewebe. Der Ausgangspunkt der Erkrankung, kleine radiale Spalten in der Rinde, ist auf den Frost zurückzuführen, und zwar auf durch ihn entstehende Spannungsdifferenzen. Diese werden nun wieder am stärksten dort zu wirken vermögen, wo, wie am Knoten, durch die nach den Augen führenden Markbrücken die Festigkeit des Holzringes gelockert ist.

Verf. bespricht dann den seltenen, und bisher von anderen Pathologen noch nicht beobachteten Brombeerkrebs, sowie im Zusammenhang noch die Unterschiede zwischen Rosen- und Spiraea-Krebs.

Ehrenberg (Breslau).

v. Tubeuf, Perennieren des Aecidienmycels vom Birnenrostpilz. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft. 1907. Heft 4.)

Verf. teilt in Erweiterung einer früheren Veröffentlichung mit, daß unter besonderen Verhältnissen überwinterter Birnenrost nicht nur Pykniden, sondern auch normale Aecidien in großer Zahl bildete. Im zweiten Winter indes erwiesen sich die im Vorjahr vom Pilz befallenen Teile

als abgestorben. Somit haben sich die beiden kranken Birnbäume nach zweimaliger Aecidienbildung der kranken Teile entledigt und werden nunmehr wieder nur gesunde Zweige bilden.

Ehrenberg (Breslau).

Laubert, R., Ueber eine Einschnürungskrankheit junger Birken und die dabei auftretenden Pilze. (Arbeiten aus der kaiserl. biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. V. 1906. p. 206.)

An den höchstens $^1/_2$ m hohen Birken fand Verfasser eine knapp ober dem Boden liegende wenige Centimeter lange Stelle, wo die Rinde abgestorben und bräunlichschwarz gefärbt war. Das Dickenwachstum unterblieb an dieser Stelle völlig. Die primäre Ursache mag ein Frostschaden sein; in der schadhaften Stelle siedelten sich einige Pilze an, welche die geschädigten Gewebe total zerstörten.

Das Mycel der gefundenen Arten durchsetzt alle Teile und wuchert kräftig intra- und intercellular weiter. Die Schädiger wurden genau studiert und es sind dies: Coniothecium Betulae n. sp., Fusicoccum betulinum n. sp., Sporodesmium cavernarum n. sp. und Pestalozzia Hartigii subsp. Betulae.

Matouschek (Reichenberg).

Vosseler, J., Der Nutzen der angewandten Entomologie. (Der Pflanzer, Tanga. Jahrg. I. p. 364—366.)

Um weiteren Kreisen einen richtigen Begriff von der immensen Bedeutung der angewandten Entomologie für den Nationalwohlstand ackerbauender Länder und Kolonieen zu geben, beleuchtet Vosseler an der Hand eines von Quaintance auf der 17. Jahresversammlung der Vereinigung ökonomischer Entomologen in Nordamerika gehaltenen Vortrages die Werte, welche die angewandte Entomologie in den Vereinigten Staaten dem Lande erhält. (Vergl. Quaintance in: U. S. Departement of Agriculture. Bureau of Entomology. Bull. No. 52. p. 5—25. Washington 1905.) Um nur zwei Zahlen herauszugreifen, so erleiden die Vereinigten Staaten in ihren landwirtschaftlichen Erträgnissen durch Ungeziefer nicht weniger als ca. 1200 Millionen Mark, d. i. etwa 10 Proz., jährliche Einbuße an Produktenwerten. Die Arbeit der praktischen Entomologen rettet aber dem Staat nicht weniger als ca. 526 Millionen Mark jährlich. Daneben fördert die angewandte Entomologie fortgesetzt die wertvollsten wissenschaftlichen Resultate zu Tage, und der praktische Entomologe ist im vollen Sinne des Wortes zu einem Pionier auf dem Gebiete der Biologie geworden. Das sind Tatsachen, die man den leitenden Kreisen auch des Deutschen Reiches und seiner Kolonieen nicht eindringlich genug vor Augen stellen kann. Th. Kuhlgatz (Berlin).

Trotter, A., Su la struttura istologica di un micocecidio prosoplastico. (Sep. aus Malpighia. Vol. XIX. 9 p.)

Anatomie der Galle von Ustilago Grewiae (Pass.) Henn. auf jungen Aestchen von Grewia venusta Fres. Diese Mycocecidie entsteht durch Einsetzen und Verbreiten des Mycels im Rindenparenchym zur Zeit des beginnenden Sekundärwachstums. Die Parenchymzellen werden zu lebhafter Teilung und zur Bildung großer Beulen unter dem Periderm angeregt, in deren Masse eine Sklerenchymhülle um das Pilzsporenlager entsteht. Später wird eine schmale Trennungsschicht angelegt, welche das Ausstoßen der Galle vom Aste anstrebt.

E. Pantanelli (Rom).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezzi, M., Ditteri Eritrei raccolti dal Dott. Andreini e dal Prof. Tellini. (Bull. Soc. Entomol. italiana. Anno XXXVII. p. 214.)

Diese wichtige Mitteilung widmet sich besonders den Dipteren der italienischen Kolonie Erythrea und enthält die Mehrzahl der in Afrika gesammelten Dipteren und insbesondere ein vollständiges Verzeichnis der von Algier bis zum Kap der Guten Hoffnung beschriebenen Cecidomyiden (p. 214—216). Ein erstes Verzeichnis enthält 32 gut unterschiedene Cecidomyiden mit den entsprechenden bibliographischen Angaben; das zweite Verzeichnis zählt 20 nicht spezifizierte Cecidomyiden auf. Houard (Paris).

Houard, C., Glanures cécidologiques. (Marcellia, Rivista intern. di Cecidologia. Avellino. T. V. 1906. p. 65—69. 5 fig.)

In dieser kurzen Arbeit weist der Verf. auf folgende fünf interessante Tatsachen hin: 1) Das Vorkommen von Aulax papaveris in den Kapseln des Papaver Lecoqii in Mittelfrankreich und in denen der Spielart γ calcicolum des Papaver dubium in Algier. 2) Eine Psyllidocecidie der Eugenia malaccensis, die kleine Hervortreibungen an der Oberfläche des Blattrandes der Pflanze erzeugt. 3) Vorkommen der Dipterocecidie von Gourliea decorticans in der Republik Argentinien, in San Raphael. 4) Auftreten der weichen Galle der Kochia prostrata, die durch eine Diptere erzeugt wird, an einer neuen Stelle in Europa, in Spanien. 5) Vorkommen der interessanten Galle von Rhopalomyia tubifex auf Artemisia campestris im Mittelmeerbecken, in Tunis. Houard (Paris).

Houard, C., Anatomie de la „Galle en capsule" de l'Euphorbia Cyparissias L. (Revue génér. de botan. Paris. T. XVIII. 1906. p. 241—251. 19 fig.)

Die roten Larven einer Diptere aus der Familie der Cecidomyiden, der Perrisia capsulae Kieff., erzeugen am Ende der Blatttriebe der Euphorbia Cyparissias sehr nette, grünliche, glatte, länglich, beinahe cylindrisch gestaltete, 10—15 mm lange Gallen; eine große Höhle mit dicken Wänden enthält die Larven.

Nach einigen Bemerkungen über die Entwickelungsgeschichte geht der Verf. auf die anatomische Struktur der Gallenwand ein. Diese ist sehr dick und wird durch eine Verlötung der Endblätter des Triebes gebildet, deren verschiedene Gewebsschichten man, allerdings in einem anderen Sinne umgewandelt, wiederfindet. Man kann so in der Wand eine Nährschicht, die hauptsächlich auf Kosten der oberen Epidermis der Blätter gebildet ist, und eine Schutzschicht unterscheiden, die von den subepidermoidalen Zellen durch Hyperplasie herstammt.

Die histologischen Eigenschaften der Kapselgalle sind demnach deutlich denen der Blattscheidencecidie derselben Wolfsmilchart ähnlich. Dies ließ sich von vornherein annehmen, da man ja die Blattscheide als durch Verwachsung einer Anzahl von Deckblättern entstanden auffassen kann, d. h. von Blättern, die bereits zu einem bestimmten Zwecke umgebildet waren.

Andere anatomische Eigenschaften, wie z. B. der Bau der Bastholzbündel der Gallenwand, zeigen, daß man diese Cecidie als eine Stengelendgalle oder eine caulinäre Akrocecidie auffassen kann.

Houard (Paris).

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Houard, C., Sur l'identité de structure des galles involucrales et des galles des pousses feuillées chez les Euphorbes. (Compt. rend. de l'Acad. des sc. de Paris. T. CXLII. 1906. p. 1435—1438.)

Bei einer Anzahl Wolfsmilcharten erzeugen die Larven einer Diptere aus der Familie der Cecidomyiden, der Perrisia capsulae, 2 Arten Cecidien, von denen die einen am Ende der Triebe sitzen, während die anderen auf Kosten der Blattscheiden erzeugt werden. Da die verlöteten Blattscheidendeckblätter nichts anderes sind als einer bestimmten Funktion angepaßte Blätter, erschien es interessant, anatomisch zu untersuchen, ob das Cecidozoon in beiden Fällen bei der Erzeugung der Gallen auf Kosten von Elementen gleichen Ursprungs in gleicher Weise einwirkte.

Gallen der Blattscheide sind von verschiedenen Autoren bei Euphorbia Cyparissias, E. Esula und E. Pithyusa beschrieben worden. Die Cecidien der beiden ersteren Wolfsmilcharten nehmen die Gestalt einer länglichen oder bauchigen, 5—8 mm hohen Flasche an; bei der dritten haben sie die Gestalt eines langen, gebogenen Hornes von einer Länge bis zu 15 mm.

Die Galle der Blatttriebe ist bei 3 Wolfsmilcharten bekannt (E. Cyparissias, E. Esula und E. nicaeensis). Sie besteht aus kapselförmigen, cylindrischen Gewächsen, die sich nach der Spitze zu schnell verjüngen. Diese Gallen sind grünlich, glatt, 10—15 mm lang und 3—5 mm im Durchmesser.

Verf. zeigt, daß die von den Larven der Perrisia capsulae ausgeübte cecidogene Wirkung in gleicher Weise sich geltend macht bei den Blättern an der Spitze der Triebe der Euphorbien wie bei den verlöteten Deckblättern der Blattscheiden, indem sie sie zu Gallen umbildet. In beiden Fällen kommt die große Dicke der Gallenwände durch eine lebhafte Wandbildung seitens der inneren subepidermoidalen Zellen zu stande; in beiden Fällen gibt die schnelle Differenzierung der neugebildeten Zellen zur Entstehung einer (inneren) Nährschicht, die dem Parasiten anliegt und einer (äußeren) sklerotischen Schutzschicht, die mit der Gefäßregion in Verbindung steht, Veranlassung.

Houard (Paris).

Lemée, E., Les Ennemis des Plantes. 3. et 4. séries. Suppl. No. 1: Balais de sorcière, Exoascus, Taphrina. 11 p. Alençon 1906.

Im Departement Orne und besonders in der Umgegend von Alençon sammelte Verf. folgende Deformationen:

A. Hexenbesen auf: Abies pectinata, Abies Pinsapo, Abies Nordmanniana, Picea Nigra, Pinus silvestris, Cerasus avium, Prunus domestica, Prunus Insititia, Betula alba, Carpinus Betula und Ulmus campestris.

B. Exoascus auf: Prunus Persica, Prunus domestica, Prunus spinosa, Alnus glutinosa.

C. Taphrina auf: Alnus glutinosa, Pirus communis, Populus nigra und pyramidalis, Quercus pedunculata, Ulmus campestris und U. montana. Houard (Paris).

Darboux, G., et **Mingaud, G.,** Un nouvel ennemi des Chrysanthèmes, Phytoecia pustulata Schrk. (Bull. Soc. Études Sc. nat., Nîmes. 33. année. p. 15—19.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Phytoecia pustulata Schrk. (= Ph. lineola Fab.) ist eine kleine, langhörnige Coleoptere, 8--10 mm lang, die besonders auf Achillea millefolium gefunden wird, die aber die Verff. auch immer in Südfrankreich auf den Chrysanthemen gefunden haben, deren Blütenstengel sie abfrißt. Die Eier werden vom Weibchen etwas unterhalb des durch das Insekt gemachten Einschnittes abgelegt; daraus schlüpfen Larven aus, die einen Gang in die Marksubstanz bis zur Höhe der Blütenkrone bohren. Jedes Weibchen kann 15—20 Blütenstengel zerstören; daher ist es gut, die Insekten im April zu entfernen, besonders morgens die abgeschnittenen Stücke von Stielen zu verbrennen und die Wurzeln der Chrysanthemen mit Schwefel und Schwefelkohlenstoff zu behandeln. Houard (Paris).

Meijere, J. C. H. de, Ueber zwei neue holländische Cecidomyiden, von welchen die eine an Kohlpflanzen schädlich ist. (Tijdschrift voor Entomologie, uitgegeven door de Nederlandsche Entomologische Vereeniging. Deel XLIX. 1906. p. 19—28 u. Pl. 3.)

1) Contarinia torquens n. sp. Die Larven der Cecidomyiden-Gattung Contarinia bewohnen Blüten, Früchte, Blätter, Zweigspitzen, die meisten Blüten. Einige sind Erreger von Blattgallen, einige von Zweigspitzendeformationen. Verf. konnte aus Contarinia-Larven, die sich in den Blattachseln von in Nordholland gebautem Savoyerkohl fanden und offenbar die Pflanze angefressen hatten, Puppe und Imago züchten. Die Larven verpuppen sich in der Erde. Larve, Puppe und Imago werden hier unter Beigabe morphologischer Figuren sorgfältig beschrieben. Wahrscheinlich zu derselben Contarinia-Art gehören Cecidomyiden-Larven, die eine noch wenig bekannte, in Holland mit „draaihartziekte" (Drehherzigkeit) benannte, Krankheit verursachen. Die Drehherzigkeit des Kohles, typisch besonders an jüngeren Pflanzen, wurde zuerst einer Motte, Plutella maculipennis Curt., zur Last gelegt, dann aber von Quanjer mit Sicherheit auf diese Cecidomyiden-Larven zurückgeführt. Quanjer wird demnächst die phytopathologische Seite dieser Krankheit gleichzeitig mit anderen Krankheiten des Kohles ausführlich dartun.

2) Porricondyla (Dicroneurus) argentifera n. sp. Die Larve, die Verf. in Hilversumer Gärten auf abgefallenen faulenden Blättern fand, geht zur Verpuppung in die Erde. Ovaler, schmutzigweißer Puppenkokon. Verf. zog das Tier im Zimmer. Ende März, Anfang April krochen die ausgebildeten Mücken aus. Beschreibung von Larve, Puppe, Imago ♂♀ unter Beigabe von Abbildungen. Th. Kuhlgatz (Berlin).

Leonardi, G., Diagnosi di Cocciniglie nuove. (Redia. Vol. III. 1906. Fasc. 1. 7 p.)

Neue Schildläuse: Conidiella Taxus ruft Absterben von Eibenblättern in Italien hervor; sie hat keine Parasiten. Hemichionaspis Orlandi auf Blättern verschiedener brasilianischer Pflanzen; Conidia picea auf Blättern von Billartia officinalis bei Valencia (Spanien). E. Pantanelli (Rom).

Vosseler J., Noch einmal die Kräuselkrankheit. (Der Pflanzer, Tanga. Jahrg. I. p. 280—283.)

Neuerdings in Deutsch-Ostafrika gemachte Erfahrungen bestätigen im wesentlichen Vosselers erste, bereits an dieser Stelle referierte Mitteilung im Pflanzer No. 14 „Die Kräuselkrankheit der Baumwolle".

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verf. präzisiert noch einmal in Kürze das Krankheitsbild: Allzufeuchter Boden — Wurzelfäule — Wachstumsstockung — Kräuselung der Blätter — Ueberhandnehmen der Cikaden. Offenbar hat man also die Kräuselkrankheit in letzter Linie zurückzuführen auf übergroße Bodenfeuchtigkeit. Der massenhafte Cikadenbefall ist schließlich nichts als eine Begleiterscheinung der Blattkräuselung. Vosseler wendet sich an die Baumwollpflanzer mit einem Fragebogen von 9 Fragen, von deren Beantwortung er weitere Aufklärung über das Wesen dieser Krankheit und weitere praktische Winke über geeignete Bekämpfungsverfahren erhofft. Vergl. auch das Referat über Vosselers Mitteilung „Die Baumwollcikade". Th. Kuhlgatz (Berlin).

Howard, L. O., The brown tail moth and how to control it. (Farmers Bulletin. No. 264. — U. S. Department of Agriculture. Washington 1906. 22 p. 10 Fig.)

Die brown tail moth oder der Goldafter, Porthesia chrysorrhoea, eine auch bei uns nicht seltene und zuweilen merklich schädliche Schmetterlingsart, gehört zu denjenigen, welche aus Europa nach Amerika verschleppt worden sind und dort einen viel größeren Schaden anrichten als bei uns. Beim Goldafter kann als Zeitpunkt der Einschleppung mit einiger Sicherheit das Jahr 1890 angegeben werden. Sein erstes stark schädliches Auftreten wurde 1897 von Gartenbesitzern in den Städten Somerville und Cambridge in Massachusetts bemerkt. Vertilgungsmaßregeln unter staatlicher Mithilfe durch Bereitstellung von Geldmitteln konnten die Ausbreitung des Schädlings nicht hindern. Am Schlusse des Jahres 1905 war der Schmetterling, dessen Ausbreitung infolge der dort meist aus Südwesten wehenden Nachtwinde hauptsächlich nach Nordosten erfolgt, schon bis Eastport vorgedrungen. Die westliche Grenze in Massachusetts bildete die Stadt Amherst. Neuerdings hat sich auch das Interesse der Regierungen der betreffenden Staaten wieder diesem Schädling zugewandt, und ein Gesetz wurde erlassen. Doch ist es jetzt offenbar nicht mehr möglich, eine Weiterverbreitung zu verhindern. Der Schade besteht in dem Entblättern aller möglichen Laubbäume, welches bei mehrfacher Wiederholung die Bäume zu Tausenden zum Eingehen bringt; auch können die in der Luft umherfliegenden Haare der Raupe bösartige Entzündungen auf der menschlichen Haut hervorrufen, und es ist dies in vielen Fällen vorgekommen.

Die Bekämpfung besteht wie bei uns hauptsächlich in dem Abschneiden und Verbrennen der gesponnenen Nester, in welchen die Raupen gemeinschaftlich überwintern. Im Frühjahr treten Bespritzungen des Laubes mit arsenikhaltigen Lösungen hinzu. Howard nennt auch eine Anzahl der natürlichen Feinde der Porthesia, leider, wie viele amerikanische Autoren, dieselben nur mit ihrem dortigen Vulgärnamen bezeichnend. Er nennt einige Kukuksarten und einige andere Vogelarten, ferner Fledermäuse. Auch hat man europäische Parasiten des Goldafters (deren Namen bei Howard nicht genannt werden) in Nordamerika heimisch zu machen versucht. Die Resultate stehen noch aus. K. Friederichs (Berlin).

Vosseler, J., Die Baumwollkäfer-Ameise aus Guatemala. (Der Pflanzer, Tanga. Jahrg. I. p. 362—364.)

Der berüchtigte amerikanische Baumwollkäfer, Anthonomus grandis Boh., wird in Guatemala von der „Kelep"- oder Baumwollkäfer-Ameise gänzlich in Schach gehalten. Einen ebenso wirk-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

samen Kampf führen die Keleps gegen andere Baumwollschädlinge. Man hat daher versucht, die Ameise in das unter dem Anthonomus schwer darniederliegende Baumwollgebiet von Texas einzuführen. Vosseler hält es nun nicht für ausgeschlossen, daß später vielleicht auch für Deutsch-Ostafrika einmal die Zeit kommen könnte, wo man eine Ansiedelung dieser nützlichen Ameise in den dortigen Baumwollkulturen wünschen könnte. Er teilt daher im Anschlusse an einen von O. F. Cook (in U. S. Dep. of Agricult. Bureau of Entomology. Bull. Nr. 49. 1904) herausgegebenen Bericht einiges Nähere über die vortrefflichen Eigenschaften dieser Ameise mit. Sie beschädigt die Pflanze nicht. Sie legt ihre Nester so tief in der Erde an, daß sie auch die Wurzeln der Baumwollstauden nicht verletzt, und die Nester werden bei der Beackerung des Bodens nicht zerstört. Sie belästigt den Menschen nicht durch ihren Stich, da sie von ihrem Stachel fast nur zur Lähmung ihrer Beute Gebrauch macht. Ihre Einführung nach Texas scheint vorläufig gelungen zu sein. Ob der Einführung aber eine wirkliche Einbürgerung folgen wird, bleibt abzuwarten; besonders, ob sie sich an das dortige Winterklima wird gewöhnen können. Vor verfrühten Hoffnungen warnt sowohl Cook wie Vosseler. Th. Kuhlgatz (Berlin).

Vosseler, J., Eichhörnchen als Baumwollverderber. (Der Pflanzer, Tanga. Jahrg. I. p. 352.)

Eichhörnchen, Sciurus palliatus Peters, traten im Bezirk Bagamoyo in Deutsch-Ostafrika in Baumwollfeldern so schädlich auf, daß die Kommune Fangprämien aussetzte. Die Tiere klettern an der Pflanze hoch, ziehen sie nieder, öffnen die Kapseln, entfernen die Wolle und nagen die unreifen Kerne aus der Kapsel. Verf. beschreibt eine einfache Köderfalle, wie die Eingeborenen sie gegen diese Schädlinge verwenden. Th. Kuhlgatz (Berlin).

Ehrenberg, Einige Beobachtungen über Pflanzenschädigungen durch Spüljauchenberieselung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVI. p. 193).

Verf. bespricht einige auf den Berliner Rieselfeldern beobachtete Pflanzenschädigungen, deren Ursache in einer direkten Einwirkung der Spüljauche zu erblicken ist. Es gehören hierher die auf die Wirkung der großen Wassermassen zurückzuführenden Mißstände, beispielsweise die Entwurzelung von Obstbäumen und Maispflanzen, wie auch die ungünstige Einwirkung einer unvorsichtigen Berieselung auf die Rüben. Wenn die Spüljauche bis an den Wurzelhals bereits stark herangewachsener Rüben gelangt, dann treten an den Pflanzen eigenartige, vornehmlich durch das Welken der Blätter auffallende Krankheitserscheinungen auf, in welchen wohl eine Art Erstickungsvorgang der Wurzel zu erblicken ist.

Die chemische Zusammensetzung der Spüljauche wirkt ebenfalls unter Umständen nachteilig auf die angebauten Gewächse. So bedingt die übermäßig reichliche Stickstoffernährung Lagergefahr und Reifeverzögerung bei Getreide, sowie eine starke Begünstigung der Strohproduktion auf Kosten des Körnerertrags. Ferner können die Schädigungen durch den hohen Kochsalzgehalt der Jauche hervorgerufen werden. Dieser macht den Anbau von Tabak ganz unmöglich und kann bei Kartoffeln zu einer erheblichen Beeinträchtigung des Stärkegehaltes führen. In besonders starkem Maße pflanzenschädigend wirkt jedoch die auf den hohen Gehalt des Rieselwassers an gelösten und suspendierten organischen Stoffen zurückzuführende Verschlickung. Verf. hält es nicht für

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ausgeschlossen, daß die faulenden organischen Massen eine direkte Giftwirkung äußern, wenn auch einige in dieser Richtung angestellte Vegetationsversuche eine solche Ansicht nicht unterstützten. Die ungünstige Wirkung der Schlickmassen ist wohl mehr durch ihre physikalische Beschaffenheit zu erklären. Eine sachgemäße Bekämpfung der Verschlickung verdient jedenfalls größte Beachtung. Vogel (Bromberg).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Schorr, Ein neues Modell eines einfachen beweglichen Objekttisches. (Zeitschr. f. Mikrosk. Bd. XXIII. Heft 4.)

Die Glasschleiferei Hellige-Freiburg i./B. stellt einen Objekttisch her, der sich auszeichnet durch 1) Einfachheit der Konstruktion, 2) niedrigen Preis, 3) Möglichkeit, daß er an jedes Mikroskop ohne weiteres angebracht werden kann, wodurch auch eine Vergrößerung des Objekttisches erfolgt. Wolf (Marburg).

Hansen, Einige Farbfilter sowie einige histologische Färbungen für mikrophotographische Aufnahmen. (Zeitschr. f. Mikrosk. Bd. XXIII. Heft 4.)

Verf. empfiehlt das Lichtgrün F.-Naphtholgelb S.-Filter und für blaue und violette Strahlen eine Kombination von Wasserblau und Erythrosin. Um schwarze resp. blauschwarze Farbentöne für die zu photographierenden mikroskopischen Präparate zu erhalten, verwendet Verf. Eisenhämateïn-, Chromalaunhämateïn- und Ferrikochenillelösung.

Wolf (Marburg).

Guéguen, F., Emploi du Sudan III comme colorant mycologique. (Bull. Soc. mycol. de France. Paris 1906. p. 224—226.)

Zur Bestimmung gewisser Pilze ist es von Wichtigkeit, die dicken Tröpfchen färben zu können, die man in ihren Sporen oder Konidien findet. Nach dem Verf. ist eines der besten Färbemittel das Sudan III, ein in Wasser unlösliches, braunes Pulver, das sich jedoch in Alkohol und Fetten löst und durch Einwirkung von Amidoazobenzol auf β-Naphthol entsteht. Um die Wirkung des Alkohols, gewisse Stoffe zu lösen, auszuschalten, kann man auch Chloralsudan als Reagens benutzen. Milchsäure ist auch ein bequemes Lösungsmittel für Sudan.

Bei mykologischen Arbeiten ist es im allgemeinen vorteilhaft, Sudan zusammen mit Waschblau und Jod zu verwenden, die leicht mit ihm zusammengebracht werden können. Dieses dreifache Reagens färbt fettige Stoffe lebhaft orange, Stärke violett und Glykogen mahagonibraun, auf einem blauen Protoplasmagrunde.

Das Reagens läßt sich in gleicher Weise bei der Untersuchung von Flechten benutzen. Houard (Paris).

Hilgermann, R., Ueber die Verwendung des Bacillus prodigiosus als Indikator bei Wasseruntersuchungen. (Arch. f. Hyg. Bd. LIX. Heft 2. p. 150—158.)

Die bekannte Labilität des Bacillus prodigiosus in Bezug auf Farbstoffbildung mußte seine Verwendbarkeit zu quantitativen Bestimmungen von vornherein recht zweifelhaft erscheinen lassen. Gegenüber neueren Bestrebungen, mit seiner Hilfe auch zu quantitativen Wertigkeitsbestimmungen von Filtrationsanlagen zu gelangen, erhob sich daher

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Frage, ob und welcherlei Einfluß ein längerer Aufenthalt im Rohwasser verschiedenen Bakteriengehaltes auf die Farbstoffbildung des Bacillus prodigiosus etwa auszuüben vermöchte.

Die Ergebnisse der angestellten Versuche waren folgende:

Während im strömenden Dampfe (2 Stunden) sterilisiertes Leitungswasser erst nach 2- bis 3-tägiger Einwirkung eine deutliche Minderung der Farbstoffbildung erkennen ließ, hemmte keimfrei filtriertes Leitungswasser bereits in wenigen Stunden diese Fähigkeit in deutlicher Weise, und besonders entschieden und frühzeitig wurde dieser Effekt durch rohes Leitungswasser erzielt. Einen noch höheren Grad erreichte die Hemmung bei der Heranziehung eines keimreicheren natürlichen Rohwassers (Spreewasser), wie es ja in praxi bei Filtrationsanlagen meistens in Frage kommt, und am ausgesprochensten wurde die Erscheinung bei Verwendung eines künstlich mit Bacillus fluorescens liquefaciens und anderen Wasservibrionen angereicherten Leitungswassers. In einem solchen Wasser war bereits nach 30-minütiger Einwirkungszeit die Farbstoffbildungsfähigkeit auf der Agarplatte völlig verloren gegangen.

In allen diesen Fällen jedoch wurden durch die Beschickung steriler Kartoffelscheiben mit reichlicheren Mengen der zu prüfenden Flüssigkeit noch qualitativ positive Resultate erzielt. Zur quantitativen Wertigkeitsbestimmung von Filtrationsanlagen eignet sich also der Bacillus prodigiosus nicht; unter Zuhilfenahme des optimalen Kartoffelnährbodens dürfen aber wenigstens qualitativ sichere Ergebnisse erwartet werden. Ernst Thesing (Magdeburg).

Schneider und **Kunze,** Spinnfasern und Färbungen im Ultramikroskop. (Zeitschr. f. Mikrosk. Bd. XXIII. Heft 4.)

Das Ultramikroskop eignet sich zur Prüfung gefärbter, sowie bedruckter Erzeugnisse der Textilindustrie, insbesondere bei kleinen Proben, Mellierungen und Ausfärbungen mit Farbengemischen. Die nach verschiedenen Verfahren gefärbten Fasern zeigen im Ultramikroskop verschiedene Merkmale; am meisten unterscheiden sich Färbungen mit unlöslichen und adjektiven Farbstoffen von den direkten Färbungen.

Wolf (Marburg).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Henneberg, W., Einfluß von 12 Säurearten, von Alkohol, Formaldehyd und Natronlauge auf infizierte Brennerei- und Preßhefe. (Wochenschr. f. Brauerei. 1906. No. 40—44; Zeitschrift f. Spiritusindustrie. 1906. No. 47—52.)

Den Anlaß zu den mitgeteilten Untersuchungen gaben die zahlreichen aus der Praxis zur biologischen Analyse eingesandten Hefen- und Maischeproben, die sich fast ausnahmslos mehr oder weniger stark infiziert erwiesen. Die Praxis beachtet also zur Zeit vielfach noch längst nicht in genügender Weise die uns in den Bakteriengiften gebotenen Hilfsmittel zur Reinhaltung oder Reinigung der Hefe.

In den Lufthefefabriken versucht man bekanntlich durch häufigen Stellhefewechsel Störungen durch Infektionen zu vermeiden. Häufig genug ist die neubeschaffte Anstellhefe aber stärker infiziert als die alte Betriebshefe, da nur sehr wenig Fabriken zur Zeit Reinzuchthefe züchten. Durch das beständige Hefewechseln erklärt sich auch, daß bestimmte Schädlinge, wie die „Flockenmilchsäurebakterien", in fast sämt-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lichen Lufthefefabriken zu finden sind. Wie Verf. beobachtete, gibt es eine große Anzahl Milchsäurebakterienarten, die das Flockigwerden der Hefe verursachen.

In den Hefefabriken nach dem alten Verfahren pflegt man durch möglichst stark gesäuerte Hefenmaischen (1,1—1,3 Proz. Milchsäure) die Hefe in reinem Zustande zu erhalten. Die sich trotzdem wohl regelmäßig einstellenden starken Nachsäuerungen in der Hauptmaische deuten schon an, daß Infektionen in der geernteten Hefe auf diese Weise nicht vermieden werden.

Die Brennereien schließlich weisen ebenfalls in den Hauptmaischen fast regelmäßig Infektionen auf, obwohl auch hier Milchsäure oder Schwefelsäure in der Hefenmaische (Kunsthefe, Hefensatz) zur Reinigung der Hefe zur Anwendung kommt.

Im Interesse der Praxis ist es, daß durch eingehende Untersuchungen die Ursache der häufigen Infektionen genau festgestellt wurde. Es mußten daher diejenigen Giftmengen ausfindig gemacht werden, die zur Abschwächung oder Abtötung der Infektionsorganismen notwendig sind. Ebenso war zu untersuchen, welche Zeit eine bestimmte Giftmenge zur Erreichung dieses Zweckes angewandt werden muß.

Die Gifte sind selbstverständlich in gewisser Konzentration auch für den Hefenpilz von schädlichem oder tödlichem Einfluß. Nur solche Gifte, bei denen die Bakterienabtötung oder Abschwächung viel früher als die der Hefe erfolgt, sind für die Praxis brauchbar. In der vorliegenden Arbeit wurden nur leicht anwendbare Gifte, die teilweise bereits Verwendung finden, untersucht. Es wurden Hefewaschungen und Reinigungsgärungen vorgenommen, d. h. im ersteren Falle war das Waschwasser, das meist nur kurze Zeit zur Einwirkung kam, mit bestimmten Giftmengen versetzt, während bei den Reinigungsgärungen die infizierte Hefe in Würze oder Maische mit einem bestimmten, meist geringeren Giftzusatz 1 oder 2 Tage gärte.

Die Untersuchungen, welchen Einfluß die Gifte auf den Hefenpilz und die Infektionsorganismen ausübten, wurden in der Weise vorgenommen, daß nach bestimmten Zeiten kleine Proben den Versuchsgläsern entnommen und in sterile Würzeflaschen oder nach reichlicher Verdünnung in hängende Würzetröpfchen eingebracht wurden. In manchen Fällen, wie in den Schwefelsäureversuchen, wurden auch größere Hefemengen zur Anwendung gebracht, um die Versuche für praktische Verhältnisse brauchbar zu machen.

In Würze und Maische bei Anwesenheit von gärender Kulturhefe wachsen nur gewisse Infektionsorganismen, wie z. B. Penicillium, Mucor, Oidium, Kahmhefe, Exiguus-Hefe, Milchsäurepilze, Heubacillen und Essigbakterien. Buttersäurepilze, viele Fäulnisbakterien u. dergl. kommen dagegen nicht zur Entwickelung. Mit Buttersäurepilzen und Fäulnisbakterien infizierte Hefe ist aber heutzutage äußerst selten, so daß die Versuche in der angegebenen Weise vorgenommen werden konnten. Besondere Aufmerksamkeit ist nur den vielen „wilden Milchsäurepilzen“ und den Essigbakterien zu widmen, da diese nach des Verf. langjährigen Erfahrungen die häufigsten und schlimmsten Hefenschädlinge sind.

Zu den Versuchen wählte Verf. nur solche Hefe, die aus der Praxis zur Analyse eingesandt und in hohem Grade mit den genannten Schädlingen infiziert war. Da die Hefe naturgemäß für die einzelnen, wochenlang fortgesetzten Giftversuche nicht dieselbe sein konnte, so wurden

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach Feststellung der einzelnen Gifteinwirkungen schließlich die kritischen Giftmengen nochmals in einigen Parallelversuchen auf die gleiche Hefe zur Einwirkung gebracht.

Wir wollen im folgenden hier nur das wichtigste aus den in der Arbeit ausführlich mitgeteilten Ergebnissen mitteilen. Es mag bemerkt sein, daß die angeführten Zeitverhältnisse nur die im Versuche gewählte Zeit angeben, so daß die betreffende Gifteinwirkung in Wirklichkeit manchmal früher bereits eingetreten sein kann.

1. Flußsäure.

Hefewaschungen: Die Kulturhefe war in 2 Std. 4 Min. bei 0,04 Proz. abgetötet, bei dieser Menge nicht in 28 Min. und bei 0,01 Proz. nicht in 24 Std.

Die Milchsäurebakterien waren ebenfalls nach 2 Std. 4 Min. bei 0,04 Proz. nicht mehr in lebendem Zustande. Während eine Abtötung in 24 Std. bei 0,01 Proz. gelang, lebten sie bei dieser Menge nach 2 Std. 3 Min. noch. Nach 1 Std. waren sie bei 0,15 Proz. ebenfalls nicht abgetötet.

Die Kahmhefe verhielt sich wie die Kulturhefe.

Oidium lactis vertrug eine Menge von 0,01 Proz. nicht während 2 Std. 3 Min. Nach 28 Min. war es bei 0,04 Proz. noch am Leben.

Die Essigbakterien verhielten sich ebenso wie Oidium.

Reinigungsgärung: Kulturhefen und Milchsäurebakterien waren in 24 Std. bei 0,017 Proz. in Würze abgestorben. Bei 0,009 Proz. war eine durch schädliche Milchsäurebakterien infizierte Hefegärung festzustellen. Bereits bei 0,006 Proz. unterblieb aber das Flocken der Hefe, offenbar weil hier schon die Entwickelung der „Flockenmilchsäurebakterien“ stark gelitten hatte.

Die Flußsäure ist also zum Waschen der infizierten Hefe ganz ungeeignet, da die Hefe sich teilweise empfindlicher als die schädlichen Michsäurebakterien gegen dieses Gift zeigte. Bei der Reinigungsgärung in Würze erscheint die Hefe aber widerstandsfähiger. Es mag hier daran erinnert sein, daß Effront durch Anpassung der Hefe an größere Flußsäuremengen (bis 0,06 Proz.) bakterienfreie Gärungen mit diesem Gift erzielt hat.

2. Salzsäure.

Bei der Hefewaschung wurde die Kulturhefe in 2 Std. 30 Min. bei 0,72 Proz. nicht abgetötet.

Die Milchsäurebakterien und Essigbakterien waren in 30 Min. bei 0,36 Proz. abgestorben. Milchsäurebakterien lebten nach 2 Std. 30 Min. bei 0,22 Proz. noch.

Kahmhefe und Oidium waren nach 1 Std. 28 Min. bei 0,72 Proz. noch in lebendem Zustande.

Reinigungsgärung: Eine Gärung in Würze unterblieb bei 0,14 Proz., während sie bei 0,11 Proz. noch stattfand. Bereits bei 0,07 Proz. fehlten die Milchsäurebakterien. Bei 0,05 Proz. entwickelten sich diese Bakterienarten noch. Eine Flockenbildung der Hefe unterblieb schon bei 0,03 Proz., während sie noch deutlich bei 0,018 Proz. vorhanden war.

Eine Waschung und Reinigungsgärung mit Salzsäure ist demnach leicht erfolgreich auszuführen.

3. Salpetersäure.

Hefewaschung: In 24 Std. war Kulturhefe, Kahmhefe und

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Oidium bei 0,8 Proz. abgestorben. Eine Menge von 1 Proz. wurde während 2 Std. von der ersteren noch vertragen.

Kahmhefe und Oidien starben während 2 Std. bei 0,8 Proz. nicht ab.

Milchsäurebakterien und Essigbakterien waren nach 42 Min. bei 0,16 Proz. tot, nicht nach 50 Min. bei 0,08 Proz.

Reinigungsgärung: Nach 48 Std. fehlte bei 0,31 Proz. eine Gärung. Erst bei 0,25 Proz. war sie vorhanden.

Die Kulturhefe war bei 0,47 Proz. nach derselben Zeit abgestorben.

Die Milchsäurebakterien entwickelten sich bei 0,03 Proz., jedoch ohne Flockenbildung zu verursachen, sie fehlten bei 0,06 Proz.

Die Salpetersäure wäre nach diesen Befunden für beide Reinigungswege gut zu benutzen.

4. Schwefelsäure.

Die Kulturhefe und Kahmhefe wurde in 2 Std. 4 Min. bei der Waschung mit 1,3 Proz. nicht abgetötet.

Milchsäurebakterien waren nach 2 Std. 2 Min. bei 0,15 Proz., bei dieser Menge nicht nach 39 Min. abgestorben. Eine Menge von 0,05 Proz. ertrugen sie während 24 Std.

Die Kahmhefe lebte bei 0,15 Proz. nach 24 Std., nach welcher Zeit das Oidium bereits abgestorben war. Nach 2 Std. 2 Min. war letzterer Pilz bei dieser Menge noch in lebendem Zustande. Die Kahmhefe vertrug sogar während 2 Std. 4 Min. 1,3 Proz. Schwefelsäure.

Die Essigbakterien wurden in 39 Min. bei 0,15 Proz., nicht in 24 Std. bei 0,05 Proz. getötet.

Reinigungsgärung: Die Kulturhefe starb in 24 Std. bei 0,39 Proz. ab. Erst bei 0,29 Proz. war eine Gärung vorhanden.

Die Milchsäurebakterien entwickelten sich, jedoch ohne Flockenbildung der Hefe zu verursachen, noch bei 0,024 Proz., dagegen nicht mehr bei 0,049 Proz.

Sowohl zur Hefewaschung wie zur Reinigungsgärung ist Schwefelsäure ganz außerordentlich gut geeignet. Man macht bekanntlich schon seit langem hiervon in der Praxis Gebrauch. Die hier gewöhnlich zur Anwendung kommenden Schwefelsäuremengen sind nach obigen Angaben völlig ausreichend, um Infektionen zu verhindern oder hintanzuhalten.

Um ein Beispiel dafür zu nennen, sei erwähnt, daß in der Hefefabrik nach altem Verfahren die Maische öfters mit 0,06 Proz. und in manchen Lufthefefabriken die Würze mit 0,024—0,05 Proz. Schwefelsäure angesäuert wird.

Da es im Interesse der Praxis wichtig erschien, wurden auch Reinigungsversuche an größeren Hefemengen vorgenommen. Es kamen zunächst aus der Praxis eingesandte stark infizierte Hefen zur Anwendung. Es genügten hier zur Waschung der Hefe 0,5 Proz. Schwefelsäure nach etwa 2 Std., 1 Proz. nach 1—2 Std. (in einem Versuch bereits nach 20 Min.) und schließlich 1,5 Proz. nach 20—30 Min. (in einem Falle sogar nach 10 Min.).

Bemerkenswert ist auch, daß ebenfalls in den Versuchen, in welchen völlig faule, stinkende Hefemassen zur Anwendung kamen, mit größter Leichtigkeit eine absolut reine Hefe erzielt werden konnte. Durch chemische Umsetzungen, besonders wohl mit phosphorsauren Salzen, wird ein größerer Teil der zugesetzten Schwefel-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

säure in diesen Fällen gebunden. Daher sind hier etwas größere Mengen Schwefelsäure dem Waschwasser zuzusetzen. Es dürften im allgemeinen Säuremengen von 1,5—2 Proz. und eine Zeitdauer von 1—3 Std. zur völligen Reinigung stark fauler Hefe ausreichend sein.

5. Phosphorsäure.

Bei der Waschung ergab sich, daß die Kulturhefe in 1 Std. 28 Min. bei 2 Proz. und ebenso in 24 Std. bei 1 Proz. nicht abgetötet war.

Milchsäurebakterien waren in 2 Std. 17 Min. bei 0,3 Proz. getötet, dagegen nicht in 1 Std. 28 Min. bei 2 Proz. und in 24 Std. bei 0,2 Proz.

Die Kahmhefe war in 53 Min. bei 2 Proz. nicht, wohl aber in 1 Std. 28 Min. bei derselben Menge abgestorben. 1 Proz. wurde während 24 Std. noch gut vertragen.

Oidium lebte bei 2 Proz. nach 1 Std. 28 Min. und bei 1 Proz. nach 24 Std. noch.

Essigbakterien wurden in 57 Min. bei 1,5 Proz. und in 1 Std. 5 Min. bei 0,2 Proz. abgetötet, nicht in 24 Std. bei 0,1 Proz.

In Würze konnte bei der Reinigungsgärung bei 0,3 Proz. Gärung beobachtet werden. Bei 0,2 Proz. fehlten die Milchsäurebakterien. Bei 0,1 Proz. entwickelten sie sich, ohne eine Flockenbildung der Hefe zu verursachen. Letzteres trat erst bei 0,08 Proz. ein.

Zum Waschen von infizierter Hefe ist Phosphorsäure ungeeignet, zur Reinigungsgärung nur in einer Menge von 0,2 Proz. brauchbar.

6. Ameisensäure.

Die Waschung ergab, daß die Kulturhefe in 26 Min. bei 0,4 und in 1 Std. 32 Min. bei 0,3 Proz. nicht abgetötet war.

Die Milchsäurebakterien starben in 1 Std. 6 Min. bei 1 Proz. und ebenso in 1 Std. 32 Min. bei 0,3 Proz. nicht ab.

Die Kahmhefe lebte nach 31 Min. bei 0,32 Proz. und nach 1 Std. 33 Min. bei 0,2 Proz. nicht mehr, wohl aber nach 30 Min. bei 0,3 Proz. und ebenso nach 1 Std. 34 Min. bei 0,1 Proz.

Oidium wurde in 1 Std. 32 Min. bei 0,3 Proz. getötet, nicht bei derselben Menge in 30 Min.

Die Essigbakterien starben in 27 Min. bei 0,2 Proz., in 1 Std. 34 Min. bei 0,1 Proz., dagegen nicht bei letzterer Menge in 24 Min.

Reinigungsgärung: Bei den Versuchen mit Würze und Giftzusatz trat bei 0,17 Proz. keine Gärung ein, erst bei 0,16 Proz. nach 24 Std. Die Milchsäurebakterien entwickelten sich ebenfalls noch bei 0,16 Proz.; sie fehlten bei 0,17 Proz. Eine Flockenbildung der Hefe fand sich selbst bei 0,08 Proz. noch nicht ein.

Zum Waschen, ebenso zur Reinigungsgärung der Hefe ist also Ameisensäure völlig untauglich.

7. Essigsäure.

Bei der Hefewaschung wurde die Kulturhefe in 1 Std. 25 Min. bei 3 Proz., dagegen in 35 Min. bei derselben Menge nicht abgetötet.

Milchsäurebakterien waren in 2 Std. bei 4 Proz. noch in lebendem Zustande.

Die Kahmhefe wurde in 35 Min. bei 3 Proz., nicht aber in 1 Std. 25 Min. bei 2 Proz. abgetötet.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Oidium starb in 11 Min. bei 4 Proz. und in 35 Min. bei 3 Proz. ab. Es lebte noch nach 24 Min. bei 3 Proz. und nach 2 Std. bei 2 Proz.

Die Essigbakterien erwiesen sich in den Versuchen als stark abgeschwächt, da sie nach 40 Min. bei 2 Proz. bereits abgetötet waren. Sie lebten nach 43 Min. bei 1 Proz. noch.

Reinigungsgärung: Eine Gärung trat bei 0,75 Proz. in Würze nicht mehr ein, während die Kulturhefe erst bei 1 Proz. in 24 Std. abgetötet war.

Milchsäurebakterien fehlten bei 1 Proz., bei 0,75 Proz. waren bereits lebende vorhanden. Eine Flockenbildung der Hefe trat schon bei 0,25 Proz. nicht mehr ein.

Sowohl zum Waschen der infizierten Hefe wie zur Reinigungsgärung ist Essigsäure ganz unbrauchbar.

8. Buttersäure.

Die Kulturhefe starb bei der Waschung in 17 Min. bei 4 Proz., in 52 Min. bei 3 Proz. und in 2 Std. 30 Min. bei 2,5 Proz. ab. Nach 22 Min. war sie dagegen bei 3 Proz. und nach 2 Std. 30 Min. bei 2 Proz. noch in lebendem Zustande.

Milchsäurebakterien wurden in 17 Min. bei 4 Proz., in 52 Min. bei 3 Proz. und in 2 Std. 30 Min. bei 2,5 Proz. getötet. Sie lebten noch nach 22 Min. bei 3 Proz. und nach 2 Std. 30 Min. bei 2 Proz.

Die Kahmhefe wurde in 50 Min. bei 2 Proz., nicht aber in 1 Std. 25 Min. bei 1 Proz. abgetötet.

Oidium starb in 52 Min. bei 3 Proz. und in 2 Std. 30 Min. bei 2 Proz. ab. Es war dagegen nach 1 Std. 26 Min. bei letzterer Menge und nach 2 Std. 30 Min. bei 1,5 Proz. noch am Leben.

Die Essigbakterien wurden in 50 Min. bei 2 Proz. und in 1 Std. 25 Min. bei 1 Proz. abgetötet, während sie nach 49 Min. bei letzterer Menge noch lebten.

Bei der Reinigungsgärung in Würze wurde beobachtet, daß eine Gärung bei 0,5 Proz. völlig ausblieb, bei 0,25 Proz. nur in sehr geringem Grade und erst bei 0,1 Proz. sehr kräftig auftrat.

Nach 24 Std. war die Kulturhefe bei 1,25 Proz. abgetötet, ebenso fehlten hier Milchsäurebakterien. Diese entwickelten sich erst bei 1 Proz. in mäßiger Menge und verursachten bei 0,1 Proz. eine Flockenbildung der Hefe.

Zur Hefewaschung und zur Reinigungsgärung ist Buttersäure ganz ungeeignet.

9. Milchsäure.

Bei der Waschung wurde die Kulturhefe in 1 Std. 27 Min. bei 3 Proz. nicht abgetötet.

Die Milchsäurebakterien starben in 24 Std. bei 1,3 Proz. ab, sie lebten noch nach 1 Std. 27 Min. bei 3 Proz.

Kahmhefe und Oidium ertrugen während 1 Std. 27 Min. 3 Proz. und ebenso 1 Std. 58 Min. 1,6 Proz.

Essigbakterien wurden in 30 Min. bei 2 Proz., nicht aber in 24 Std. bei 0,45 Proz. abgetötet.

Reinigungsgärung: Bei 0,9 Proz. tritt noch, wie ja bekannt ist, eine starke Gärung ein. Bereits bei 0,4 Proz. blieb die Entwickelung der Milchsäurebakterien aus, auch bei 0,34 Proz. war sie noch gering.

Eine Flockenbildung der Hefe unterblieb nach 24 Std. in Ge-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

treidemaische bei 0,34 Proz. und in Würze bei 0,22 Proz. Sie trat in Getreidemaische noch bei 0,27 Proz. und in Würze bei 0,18 Proz. ein. Getreidemaische ist ein viel günstigerer Nährboden als Würze.

Essigbakterien wurden noch bei 0,45 Proz. beobachtet.

Milchsäure ist zum Waschen der infizierten Hefe mäßig gut und zur Reinigungsgärung gut geeignet.

Da seit alten Zeiten Milchsäure als Bakteriengift in den Brennereien und Hefefabriken zur Anwendung kommt, so dürfte es nicht überflüssig sein, die in der Praxis benutzten Mengen mit den Laboratoriumsbefunden obiger Versuche zu vergleichen.

In den Hefenmaischen würde zur Verhütung einer Infektion die mit Hilfe des B. Delbrücki sehr leicht zu erreichende Menge von 0,45 Proz. völlig ausreichend sein. Die Praxis wendet 0,9—1,3 Proz. an.

In den Maischen der Hefefabriken nach dem alten Verfahren wird 0,15—0,18 Proz. gewohnheitsgemäß angewandt.

Diese Menge ist nach unseren Beobachtungen nicht im stande, die schädlichen „wilden Milchsäurebakterien" fernzuhalten. Es geht dies auch aus der regelmäßig starken Infektion und der beinahe regelmäßig großen Säurezunahme während der Hefegärung hervor. Sehr zweckmäßig ist daher, wenn man in der Praxis die Säure durch Schlempezusatz bis auf 0,3 Proz. erhöht, da hier schon die Milchsäurebakterien hinreichend stark gehemmt werden. Erwähnenswert ist auch, daß die Praktiker die Anstellhefe für das Lufthefeverfahren dadurch öfter selbst reinigen, daß sie dieselbe von Zeit zu Zeit durch das alte Verfahren, d. h. durch eine stärkere Milchsäureflüssigkeit (die Hefenmaische enthält hier gewöhnlich ca. 1,3 Proz. Milchsäure), schicken. Sie wenden also hier eine Reinigungsgärung an.

In der Lufthefefabrik liegt nach unseren Befunden die übliche Säuremenge von 0,13—0,18 Proz. Milchsäure innerhalb der kritischen Menge. Die hier so außerordentlich häufigen Infektionen durch Flockenmilchsäurebakterien bestätigen dies in vollem Maße. In Würze können letztere, wie bereits gesagt wurde, nach unseren Befunden bei 0,13 Proz. noch sehr stark und bei 0,18 Proz. in mäßiger Menge auftreten. Bei solchen Infektionen im Betriebe muß mindestens bis 0,22 Proz. gesäuert oder es muß 0,024 Proz. Schwefelsäure (siehe oben) zugesetzt werden.

Die in den Getreide-Dickmaischbrennereien gewöhnlich angewandte Milchsäuremenge von 0,3 Proz. in den Maischen hemmt meist in genügender Weise die Entwickelung bestimmter schädlicher Milchsäurebakterien, bei manchen Arten genügt sie dagegen nicht.

Am allerwenigsten Säureschutz haben die Kartoffelmaischen in den Spiritusbrennereien, die nämlich trotz der natürlichen sauren Beschaffenheit des Kartoffelsaftes, und selbst nach dem Zusatz der gesäuerten Hefenmaische meist nur 0,18 Proz. Säure, auf Milchsäure berechnet, besitzen. Infolgedessen sind Infektionen hier heutzutage in allen Kartoffelbrennereien nachzuweisen.

Im Anschluß hieran mag bemerkt sein, daß der vom Institut für Gärungsgewerbe in großer Menge an die Praxis zur Säuerung der Maischen gesandte „Kulturmilchsäurebacillus", Bacillus Delbrücki, zur Zeit noch von keiner anderen Art in Bezug auf Brauchbarkeit übertroffen ist.

Auf falscher Beobachtung beruhen die Angaben, wie nachgeprüft wurde, daß eine andere Art bei 55° C noch ebenso gut säuern soll und daß diese daher viel günstiger für die Maischesäuerung sei. Der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bac. Delbrücki wird auch in einigen Weißbierbrauereien und in verschiedenen Milchsäurefabriken mit großem Erfolg angewandt.

10. Oxalsäure.

Bei der Waschung der infizierten Hefe wurde die Kulturhefe in 24 Std. bei 0,5 Proz., nicht in 1 Std. 3 Min. bei 2,8 Proz. und ebenso nicht in 2 Std. 9 Min. bei 2,5 Proz. abgetötet.

Die Milchsäurebakterien wurden in 58 Min. bei 0,21 Proz. getötet.

Die Kahmhefe starb während 24 Std. bei 0,5 Proz. ab, nicht nach 2 Std. 9 Min. bei 2,5 Proz.

Oidium lebte nach 24 Std. bei 2,8 Proz. noch.

Die Essigbakterien waren nach 47 Min. bei 0,5 Proz. abgestorben.

Reinigungsgärung: Innerhalb 24 Std. trat bei 0,46 Proz. keine Gärung ein. Bei 0,21 Proz. war eine geringe Gärung zu beobachten. Es fehlten bei dieser Menge bereits Milchsäurebakterien.

Das Waschen der Hefe ist nach obigen Angaben mit Oxalsäure möglich, während sie zur Reinigungsgärung unbrauchbar ist.

11. Weinsäure.

Die Kulturhefe wurde bei der Waschung in 24 Std. bei 5 Proz. nicht abgetötet.

Die Milchsäurebakterien starben in 24 Std. bei 2,5 Proz. ab, nicht aber in 44 Min. bei 5 Proz.

Kahmhefe und Oidium lebten bei letzterer Menge auch nach 24 Std. noch.

Die Essigbakterien wurden in 42 Min. bei 2,5 Proz., nicht in 48 Min. bei 2 Proz. abgetötet.

Reinigungsgärung: Eine Gärung war bei 2 Proz. nach 48 Std. vorhanden. Bereits bei 0,75 Proz. fehlten die Milchsäurebakterien, bei 0,5 Proz. war eine geringe Entwickelung dieser Pilze zu bemerken. Flockenbildung der Hefe unterblieb auch bei 0,25 Proz.

Ein Waschen der Hefe mit Weinsäure erscheint nur dann mit Erfolg möglich zu sein, wenn Säuremengen über 2,5 Proz. zur Anwendung kommen, und zwar während einer längeren Zeitdauer (24 Std.). Zur Reinigungsgärung ist die Weinsäure erst in Mengen von 0,75 Proz. und darüber geeignet.

12. Zitronensäure.

Bei der Waschung wurde die Kulturhefe in 24 Std. bei 5 Proz. nicht abgetötet.

Die Milchsäurebakterien starben in 24 Std. bei 2,5 Proz., nicht in 2 Std. 9 Min. bei 5 Proz. ab. Bei 5 Proz. lebte nach 24 Std. noch Kahmhefe und Oidium.

Die Essigbakterien wurden in 31 Min. bei 2,5 Proz. abgetötet.

Reinigungsgärung: Bei 3 Proz. war nach 24 Std. Gärung vorhanden.

Die Milchsäurebakterien entwickelten sich bei 1 Proz. nicht und erst bei 0,75 Proz. in geringer Menge. Die Flockenbildung unterblieb schon bei 0,25 Proz.

Die Zitronensäure ist zum Waschen der infizierten Hefe nur in Mengen über 2,5 Proz. bei längerer Einwir-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kung (24 Std.) und ebenso zur Reinigungsgärung erst in Mengen von 1 Proz. und darüber brauchbar.

13. Alkohol.

(Die Prozentzahlen bedeuten Volumprozente.)

Bei der Waschung der infizierten Hefe wurde die Kulturhefe in 39 Min. bei 25 Volumproz. abgetötet, nicht in 11 Min. bei 30 Proz. und in 15 Min. bei 25 Proz.

Die Milchsäurebakterien starben in 1 Std. 27 Min. bei 25 Proz. ab, nicht in 11 Min. bei 30 Proz. und in 15 Min. bei 25 Proz.

Die Kahmhefe war in 11 Min. bei 30 Proz. und in 24 Std. bei 25 Proz. tot, sie lebte noch nach 2 Std. 30 Min. bei 25 Proz. und nach 24 Std. bei 20 Proz.

Oidium wurde in 11 Min. bei 30 Proz., ebenso in 1 Std. 27 Min. bei 25 Proz., dagegen nicht in 39 Min. bei letzterer Menge abgetötet.

Die Essigbakterien waren nach 15 Min. bei 25 Proz. nicht mehr in lebendem Zustande, wohl aber nach 37 Min. bei 20 Proz.

Reinigungsgärung: Bereits bei 12 Proz. blieb die Gärung völlig aus. Bei 10 Proz. trat eine Gärung auf. Lebende Hefezellen waren nach 24 Std. bei 15 Proz. noch nachzuweisen. Bei dieser Menge lebten auch die Milchsäurebakterien noch. Die Flockenbildung der Hefe fehlte bei 10 Proz., nicht aber bei 9 Proz.

Zum Waschen und zur Reinigungsgärung ist der Alkohol ungeeignet.

14. Formaldehyd.

Bei der Waschung war die Kulturhefe in 37 Min. bei 0,15 Proz. abgetötet, nicht in 2 Std. 52 Min. bei 0,1 Proz.

Die Milchsäurebakterien wurden in 2 Std. 30 Min. bei 0,25 Proz. getötet. Sie lebten nach derselben Zeit bei 0,2 Proz. noch.

Die Kahmhefe war nach 1 Std. 35 Min. bei 0,1 Proz. noch in lebendem Zustande.

Oidium starb in 23 Min. bei 0,1 Proz., nicht in 1 Std. 19 Min. bei 0,09 Proz.

Die Essigbakterien waren in 23 Min. bei 0,1 Proz. getötet, nicht in 19 Min. bei 0,05 Proz.

Reinigungsgärung: Bei 0,1 Proz. war nach 24 Std. eine Gärung nicht zu bemerken, die Kulturhefe erwies sich als abgestorben. Sehr lebhaft war nach 48 Std. bei 0,05 Proz. die Gärung.

Milchsäurebakterien entwickelten sich bei 0,1 Proz. nicht, nur wenig bei 0,05 Proz. Flockenbildung der Hefe trat bei 0,005 Proz. noch nicht ein, sondern erst bei 0,004 Proz.

Zum Waschen der infizierten Hefe ist Formaldehyd gänzlich ungeeignet und zur Reinigungsgärung in Mengen von 0,03—0,05 Proz. geeignet, wenn es nur darauf ankommt, die Entwickelung der Bakterien zu hemmen. In der Praxis genügt dies für viele Fälle vollkommen. Besonders beachtenswert ist die Beobachtung, daß die in den Lufthefefabriken so außerordentlich häufige und gefürchtete Flockenbildung der Hefe bereits bei 0,005 Proz. Formaldehyd unterdrückt werden kann. Die Flockenmilchsäurebakterien sind also äußerst empfindlich gegen Formaldehyd.

15. Natronlauge.

Die Kulturhefe wurde bei der Waschung in 26 Min. bei

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

0,25 Proz. und in 24 Std. bei 0,2 Proz. getötet. Sie lebte noch nach 12 Min. bei 0,4 Proz. und ebenso nach 1 Std. 58 Min. bei 0,2 Proz.

Die Milchsäurebakterien waren in 16 Min. bei 0,3 Proz., in 26 Min. bei 0,25 und in 24 Std. bei 0,1 Proz. abgestorben. Nicht getötet waren sie in 19 Min. bei 0,2 Proz., in 26 Min. bei 0,18 Proz. und ebenfalls nicht in 1 Std. 59 Min. bei 0,1 Proz.

Die Kahmhefe war nach 19 Min. bei 0,2 Proz. und ebenso nach 24 Std. bei 0,05 Proz. tot. Nicht abgestorben war sie nach 23 Min. bei 0,1 Proz. und nach 2 Std. 4 Min. bei 0,05 Proz.

Oidium starb in 24 Std. bei 0,3 Proz., nicht in 1 Std. 56 Min. bei 0,4 Proz. ab.

Die Essigbakterien wurden in 16 Min. bei 0,3 Proz. und nach 24 Std. bei 0,08 Proz. getötet. Nach 19 Min. lebten sie noch bei 0,2 Proz. und nach 24 Std. bei 0,05 Proz.

Reinigungsgärung: Die Kulturhefezellen waren in 24 Std. bei 0,12 Proz. abgetötet. Bei 0,1 Proz. fand in einem Versuche eine Gärung statt.

Milchsäurebakterien entwickelten sich bei 0,12 Proz. nicht mehr, dagegen bei 0,09 Proz. in großer Menge.

Flockenbildung der Hefe war bis 0,05 Proz. (inkl.) in starkem und bei 0,06 Proz. bis 0,1 Proz. in geringem Grade vorhanden.

Sowohl zum Waschen wie zur Reinigungsgärung ist Natronlauge ungeeignet.

Gesamtergebnis.

Zum Waschen der infizierten Hefe ist am meisten geeignet: Schwefelsäure, dann Salzsäure, Salpetersäure und Phosphorsäure. Mäßig gut geeignet ist Milchsäure, Oxalsäure, Weinsäure und Zitronensäure. Ungeeignet dagegen: Flußsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Formaldehyd, Natronlauge und Alkohol.

Für die Reinigungsgärung ist am meisten geeignet: Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Milchsäure, Weinsäure und Zitronensäure. Mäßig gut geeignet: Phosphorsäure. Ungeeignet dagegen: Flußsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Oxalsäure, Formaldehyd, Natronlauge und Alkohole.

Die obigen Angaben beziehen sich, wie aus den Versuchen hervorgeht, nur auf Brennerei- und Preßhefen, die nicht an Gifte gewöhnt waren. Dies trifft wohl nur in Bezug auf die Milchsäure nicht zu, da an diese Säure die genannten Heferassen seit vielen Jahren in den Betrieben gewöhnt wurden. Wie weit die obigen Befunde verallgemeinert werden dürfen, müßten weitere Untersuchungen klarlegen.

Autoreferat.

Wolf, Kurt, Abtötung von Bakterien durch Licht und Selbstreinigung der Flüsse. (Deutsche mediz. Wochenschr. 1906. p. 1546.)

Buchner und Dieudonné fanden, daß Bakterien-Reinkulturen in Wasser oder Luft durch Sonnen- oder diffuses Tageslicht bald abgetötet werden. Bei neueren Versuchsanordnungen bei denen alle Nebenwirkungen des Lichtes, insbesondere seine Wärmewirkung gänzlich ausgeschlossen waren und bei denen die Strahlen verschiedener Wellenlänge gesondert behandelt wurden, ergab sich, daß bei 14—20° C gehaltene Bakterien durch ultraviolette Strahlen (von 265—300 $\mu\mu$) Wellenlänge in allerkürzester Zeit, durch Strahlen aber, die Spiegelglas ungehindert

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durchsetzen (von 300 $\mu\mu$ Wellenlänge an aufwärts) nicht beeinflußt werden. Die erstere Strahlenart ist im irdischen Sonnenspektrum nicht enthalten. Erst bei erhöhter Wärme (20—40° C) erlangen auch die Strahlen des sichtbaren Teils des Spektrums keimtötende Kraft. Das Sonnenlicht vermag also Wasserkeime nur bei erhöhter Wärme des Wassers zu beschädigen. Doch tritt dieser Wirkung auch dann noch jede Trübung des Wassers hindernd entgegen. Auch durch Ortsveränderung entziehen sich unter natürlichen Verhältnissen die Bakterien dem Lichte.

Die Bedeutung des Lichtes für die Selbstreinigung der Flüsse ist also ganz erheblich einzuschränken. Georg Schmidt (Berlin).

Eckstein, Maikäferverwertung. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1907. Heft 1.)

Verf. erinnert daran, daß auf Seeland durch allgemeines Sammeln der Maikäfer bis zur vollkommenen Unschädlichkeit herabgedrückt werden konnte und wünscht einen solchen Erfolg auch in Deutschland. Es werden zur Illustration Sammelerfolge in verschiedenen Gegenden für vier aufeinander folgende Flugjahre, sowie Kostenberechnungen angeführt.

Die Verwertung der auf engbegrenzten Bezirken in großen Massen zusammengebrachten Maikäfer stößt häufig auf Schwierigkeiten, ein Vergraben mit Kalk verursacht, statt Ertrag zu bringen, noch Kosten. Verf. empfiehlt daher Töten der Käfer durch Schwefelkohlenstoff mit darauffolgendem Dörren. Für das so entstehende Maikäfermehl werden Analysen unter Vergleich mit üblichen Fischfuttermitteln angegeben, denn als Hühner- oder Fischfutter würde es mit Vorteil zu verwenden sein. Es läßt sich auf diesem Wege ein Betrag von ca. 9 Proz. der Sammelkosten wieder einbringen. Ehrenberg (Breslau).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Kisskalt, Karl und **Hartmann, Max**, Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie. Jena (Fischer) 1907. VI, 174 p. 89 z. Tl. farb. Fig. 4,50 M.

Lafar, Franz, Technische Mykologie. Ein Handbuch der Gärungsphysiologie für techn. Chemiker . . . . . Bd. II: Eumyceten-Gärungen. 3. Drittel. Red. Sonderabdr. aus Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. (p. 715—871, III, p. 93—149). Jena (Fischer) 1907. 8°. 19 Fig. 5,50 M.

Lepsius, B., Ueber die Gärung. Rede gehalten 9. März 1907. (Ber. d. Senckenberg. Naturf. Ges. Frankfurt a. M. 1907. p. 113—124.)

Lohrenz, Kuno, Nützliche und schädliche Insekten im Walde. Halle (Gesenius) 1907. VIII, 117 p. 194 Fig. 8°. 2,80 M.

Miehe, H., Die Bakterien und ihre Bedeutung im praktischen Leben. Leipzig (Quelle-Meyer). 141 p. 8°. = Wissenschaft und Bildung. 12. 1 M.

Péju, G. et **Rajat, H.**, Bactéries et matières colorantes. (Lyon méd. Année XXXIX. 1907. N. 25. p. 1193—1195.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bulíř, Jaromir, Bedeutung und Nachweis des Bacterium coli im Wasser und eine neue Modifikation der Eijkmanschen Methode. (Arch. f. Hyg. Bd. LXII. 1907. Heft 1. p. 1—14.)

Duval, Charles W., A method of differentiating in sections of tissue bacteria decolorized by Grams stain. (Journ. of exper. med. Vol. IX. 1907. N. 4. p. 381—384.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein neuer Pasteurisierapparat. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 26. p. 364—366. 5 Fig.)

Guéguen, F., Réglette à lecture directe pour mensurations microscopiques. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 25. p. 117—118.)

Klett, Alfred, Untersuchungen über die Verwendbarkeit von wässerigen Extrakten aus Hühnereiweiß und Eigelb als Bakteriennährboden. Diss. med. Leipzig, 1907. 8°.

Le Dantec, A., Nouveau procédé pour la culture des anaérobies. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 25. p. 135—137.)

Pende, N. und **Viviani, L.**, Eine neue praktische Methode für anaërobische Bacillenkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 3. p. 282—284.)

Reichert, C., Nuovo condensatore a specchio per la visione in elementi ultramicroscopici. (Lo Sperimentale = Arch. di biol. norm. e patol. Anno LXI. 1907. Fasc. 4. p. 407—414. 6 Fig.)

Reitz, Adolf, Ein kombinierter Sterilisier-, Brut- und Eisschrank (D. R. G. M. a.). (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVII. 1907. Heft 9. p. 315—316.)

Vietor, E. J. Presemann, Glas als Material zum Aufkleben von Präparaten für das Celloidin-Mikrotom. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XVIII. 1907. N. 11. p. 435—436.)

Wittneben, Wilh., Weitere Erfahrungen mit dem neuen Filter „Z“. (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 14. p. 863.)

Systematik, Morphologie.

Fortineau, L. et **Soubrane**, Bacillus proteus ruber. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1907. N. 23. p. 1214—1215.)

Fortwaengler, Christian, Die bekannteren Gallwespen Nord-Tirols und ihre Gallen. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. III. 1907. Heft 4. p. 129—130.)

Lauterborn, Robert, Eine neue Gattung der Schwefelbakterien (Thioploca Schmidlei n. gen. n. spec.). (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. XXV. 1907. Heft 5. p. 238—242. 1 Fig.)

Magnus, P., Beitrag zur morphologischen Unterscheidung einiger Uromyces-Arten der Papilionaceen. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. XXV. 1907. Heft 5. p. 250—255. 1 Taf.)

—, Nachschrift zu meinem Beitrag zur morphologischen Unterscheidung einiger Uromyces-Arten der Papilionaceen d. Jahrg. d. Ber. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXV. 1907. Heft 6. p. 340.)

Mola, Pasquale, La ventosa apicale à chi è omologa? (Zool. Anz. Bd. XXXII. 1907. N. 2. p. 37—41. 3 Fig.)

—, Nuovi acari parassiti. (Zool. Anz. Bd. XXXII. 1907. N. 2. p. 41—44. 5 Fig.)

Ritter, G., Ueber Kugelhefe und Riesenzellen bei einigen Mucoraceen. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXV. 1907. Heft 5. p. 255—266. 1 Taf. u. 1 Fig.)

Schaffnit, E., Tribolium ferrugineum, ein Speicherschädling im Reismehl. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LVI. 1907. Heft 14. p. 499—502. 3 Fig.)

Biologie.

Ehrlich, Felix, Ueber die Bedingungen der Fuselölbildungen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 27. p. 357—360; N. 28. p. 369—371.)

Herzog, R. O. und **Hörth, Franz**, Ueber die Einwirkung einiger Dämpfe auf Preßhefe. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. phys. Chem. Bd. LII. 1907. Heft 5/6. p. 432—434.)

Influence des les sels de manganèse sur ferments alcooliques. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 712. p. 147—148.)

Kellermann, Karl F. and **Beckwith, T. D.**, The effect of copper upon water bacteria. (U. S. Depart. of agric. Bur. of plant industry. Bull. N. 100. Miscell. Pap. 1907. p. 57—71.)

Lange, H., Ueber den physiologischen Zustand der Hefe. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 32. p. 417—421; N. 33. p. 433—436.)

Will, H., Oberhefe und Unterhefe. Studien über Variation und Erblichkeit. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 28. p. 377.)

Zettnow, E., Ueber Froschlaichbildungen in Saccharose enthaltenden Flüssigkeiten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVII. 1907. Heft 1. p. 154—172. 4 Taf.)

Zopf, W., Biologische und morphologische Beobachtungen an Flechten. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXV. 1907. Heft 5. p. 233—237. 1 Taf.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Leers, Otto, Ueber Trinkwasser vom Standpunkt der öffentlichen Gesundheitspflege. [Forts.] (Friedreichs Bl. f. gerichtl. Med. Jg. LVIII. 1907. Heft 4. p. 296—304.)

Novotný, J., Beiträge zur Trinkwasserdesinfektion mit Peroxyden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 4/6. p. 184—192.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pasquini, Pio, Sulla difesa delle acque potabili dall' inquinamento attraverso le bocche di erogazione alla presa e lungo le condutture. (Lo Sperimentale = Arch. di biol. norm. e patol. Anno LXI. 1907. Fasc. 4. p. 536—540. [Rendic. Accad. med. fis. fiorentina].)

Rouchy, Charles, L'épuration des eaux d'égout et la méthode biologique. Epuration par septic tank avec lit de contact. (L'hyg. gén. et appliquée. Année II. 1907. N. 7. p. 385—400. 1 Fig.)

Uebelmesser, Ueben die Ventilatoren mit Brausevorrichtung eine merkbare Verunreinigung der Luft mit Wasserbakterien? Ist also diese Ventilationsmethode erlaubt oder zu widerraten? (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 12. p. 716—719. 1 Fig.)

Fleisch.

Popp, G., Erfahrungen mit dem biologischen Eiweiß-Differenzierungs-Verfahren bei Wurstuntersuchungen. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XIV. 1907. Heft 1/2. p. 33—35.)

Milch, Molkerei.

Auché, A., Lait et allaitement. [Suite.] (Arch. de méd. navale. T. LXXXVII. 1907. N. 6. p. 401—414; N. 7. p. 493—502.)

Delle, Ed., L'acide salicylique dans les vins. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 52. p. 206.)

Galvagno, Onorino, Sull' esame del latte pasteurizzato. (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXIX. 1907. N. 6. p. 214; N. 7. p. 289—299.)

Gorini, C., Die Säure und Lab erzeugenden Bakterien in ihren Beziehungen zur Milchgewinnung (Bacillus minimus mammae n. sp.). (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVII. 1907. N. 30. p. 349—350.)

Grosse-Bohle, H., Die hygienische Ueberwachung des Verkehrs mit Milch. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XIV. 1907. Heft 1/2. p. 78—89.)

Kaufmann, J., Das Säuren des Rahms bei niedriger Temperatur. Vortrag von Dr. Rosengren (Maelkeritidende 19. N. 40. p. 818—825). (Milch-Ztg. Jg. XXXVI. 1907. N. 29. p. 338—339.)

Langlade, M., La désulfitation des mouts. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 54. p. 213—214.)

Mazé, P. et **Pacottet, P.**, Sur les ferments des maladies des vins. Spécialement sur le „Coccus anomalus" et la maladie du „Bleu" des vins de Champagne. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 707. p. 12—14.)

Moro, Ernst, Ueber das bakteriolytische Alexin der Milch. (Ztschr. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. IV. 1907. Heft 2. p. 470—479.)

Moussu et **Monvoisin (d'Alfort)**, Sur les variations de composition chimique du lait chez les vaches tuberculeuses avec ou sans lésions mammaires. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 26. p. 156—158.)

Rousseau, E., Ueber die Sterilisierung der Milch durch Wasserstoffperoxyd. (Milch-Ztg. Jg. XXXVI. 1907. N. 32. p. 376. [L'industrie lactière. T. XXXII. 1907. N. 3, 6.)

Thomas, G., Les vendanges trop acides. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 50. p. 198.)

Bier, Brauerei.

Mohr, Ueber die Entstehung der Bernsteinsäure bei der alkoholischen Hefegärung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 30. p. 393.)

Schnegg, H., Das neue Montanin. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 31. p. 407—412; N. 32. p. 420—424.)

Steingraber, Das Hardanger-Oel. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 1907. N. 28. p. 299—306. Fig.)

Will, H., Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 26. p. 357—359; N. 27. p. 370—372.)

Andere Nahrungsmittel.

Bordas, Glace naturelle et artificielle; Mesure applicable à la vente. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég. Sér. 4. T. VIII. p. 126—149. 2 Fig.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Büller, L. J., Over de antiseptische werking van Anios. (Geneesk. Tijdschr. voor Nederl.-Indie. Deel 47. 1907 Afl. 2/3. p. 241—244.)

Christian, Ein Universaldampfdesinfektions-Apparat (System Rubner). (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 14. p. 835—841. 4 Fig.)

—, Die biologische Wirkung der Desinfektion durch vereinigte Wirkung gesättigter Wasser-

Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

dämpfe und flüchtiger Desinfektionsmittel bei künstlich erniedrigtem Luftdruck. (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 14. p. 841—856. 1 Fig.)

Code officiel de la désinfection. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. leg. Sér. 4. T. VIII. 1907. p. 12—36.)

Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XL. 1907. N. 1/3. p. 5—31. 36 Fig.)

Negri, La teoria della disinfezione a vapore. (Riv. di igiene e di sanità pubbl. Anno XVIII. 1907. N. 15. p. 449—463.)

Roesle, E., Die Ausbildung von Desinfektoren im Königreich Sachsen. (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 15. p. 915—919.)

Rubner, Max, Chemische und biologische Klärung der Abwässer. (Arch. f. Hyg. Bd. LXII. 1907. Heft 1. p. 58—91.)

Scordo, Francesco, Vergleichende Untersuchungen über die Eigenschaften des Sublimats und Sublamins. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 3. p. 284—238.)

Inhalt.

Kongresse.

Verhandlungen der VII. Sektion „Land- und Forstwirtschaftlicher Pflanzenschutz (Pflanzenkrankheiten, Pflanzenschädlinge und deren Bekämpfung, Schutz nützlicher Tiere") am VIII. internationalen landwirtschaftlichen Kongreß am 22. u. 23. Mai 1907 in Wien, p. 577.

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation in Berlin.

Delbrück, M., Wirkung des Getreidegiftes auf untergärige Bierhefe und andere Mikroorganismen, p. 585.

Lebedeff, S., Zur Wirkung von Oxalsäure auf Brauerei- und Preßhefe, p. 584.

Rothenbach, F. und **Hoffmann, W.**, Versuche zur Erhöhung der Oxydationswirkung der Essigbakterien durch Zusatz von Eisen- und Mangansalzen, p. 586.

Stockhausen, F., Oekologie, „Anhäufungen" nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht, p. 584.

Wibiral, E., Infektionsgefahr durch Pferdestallungen in der Nähe von Kühlschiffen, insbesondere durch die Harnsarcina, p. 584.

Referate.

ppel, O., Beiträge zur Kenntnis der Fusarien und der von ihnen hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten, p. 606.

-, Einige Versuche über die Möglichkeit eines parasitären Auftretens von Merulius lacrymans, p. 609.

ppel, O. und **Bruck, W. F.**, Sclerotinia Libertiana Fuckel als Schädiger von Wurzelfrüchten, p. 609.

ck, Ueber einen Fruchtäther bildenden Micrococcus (Micrococcus esterificans), p. 594.

Bettencourt, A. et **Borges, J.**, Subsidio para o estudo bacteriológico das águas potavois de Angra do Heroismo, p. 595.

Bezzi, M., Ditteri Eritrei raccolti dal Dott. Andreini e dal Prof. Tellini, p. 620.

Carbone, D., Ricerche su l'origine di alcuni pigmenti microbici con speciale riguardo a la tirosinasi, p. 587.

Catoni, G., I geli d'inverno e le viti, p. 614.

Darboux, G. et **Mingaud, G.**, Un nouvel ennemi des Chrysanthèmes, Phytoecia pustulata Schrk., p. 621.

Delacroix, Georges, Travaux de la Station de Pathologie végétale, p. 612.

—, Sur une maladie de la Pomme de terre produite par „Bacillus phytophthorus", p. 613.

Dietel, P., Uredineen aus Japan, p. 608.

—, Monographie der Gattung Ravenella Berk, p. 607.

Dietrich, E., Ueber den Hausschwamm, p. 610.

Eberhart, Versuche über die Keimungsverhältnisse frischgeernteter Samen, p. 603.

Eberhart und **Metzner**, Die Wirkungen von Beschädigungen der Pflanzen auf Entwickelung und Ertrag, p. 604.

Ehrenberg, Einige Beobachtungen über Pflanzenschädigungen durch Spüljauchenberieselung, p. 624.

Ehrlich, Ueber die Bedingungen der Fuselölbildung, p. 591.

Falck, R., Erwiderung auf vorstehende Publikation, p. 610.

Handurin, Ueber die Einwirkung des kohlensauren Kalks auf die Entwickelung der gelben Lupine in Bleisandboden, p. 603.

Hecke, Kulturversuche mit Viscum album, p. 609.

Hollrung, M., Einige Bemerkungen über die während des Jahres 1906 in Deutschland an den Zuckerrüben beobachteten Erkrankungen, p. 615.

Houard, C., Glanures cécidologiques, p. 620.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Houard, C., Anatomie de la „Galle en capsule" de l'Euphorbia Cyparissias L., p. 620.
—, Sur l'identité de structure des galles involucrales et des galles des pousses feuillés chez les Euphorbes, p. 621.
Howard, L. O., The brown tail moth and how to control it, p. 623.
Jensen, Orla, Einige Bemerkungen über Lab und Labbereitung, p. 592.
Katayama, T., On the preparation of a vegetable cheese from the protein of the Soy-bean, p. 601.
Kauffmann, C. H., Cortinarius asa mycorrhiza-producing fungus, p. 614.
Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, p. 587.
Laubert, R., Ueber eine neue Erkrankung des Rettichs und den dabei auftretenden endophyten Pilzen, p. 614.
—, Ueber eine Einschnürungskrankheit junger Birken und die dabei auftretenden Pilze, p. 619.
Laxa, Otakar, Ueber den Einfluß der Laktose und der Milchsäure auf die Zersetzung von Kasein durch Mikroorganismen, p. 593.
Lemée, E., Les Ennemis des Plantes. 3. et 4. séries. Suppl. No. 1: Balais de de sorcière Exoascus, Taphrina, p. 621.
Leonardi, G., Diagnosi di Cocciniglie nuove, p. 622.
Löhnis, Zur Frage der Stickstoffbindung im Ackerboden, p. 602.
Meijere, J. C. H. de, Ueber zwei neue holländische Cecidomyiden, von welchen die eine an Kohlpflanzen schädlich ist, p. 622.
Musehold, P. und **Bischoff, H.**, Sicherstellung der Trinkwasserversorgung im Felde, p. 594.
Salmon, Der Ausbruch des amerikanischen Stachelbeer-Meltaus in England, p. 614.
Sasanow, Zur Frage über die Nitrifikation in Tschernosemböden, deren Beeinflussung durch verschiedene Faktoren, und die Menge von Nitraten im Boden zu verschiedenen Jahreszeiten, p. 601.
Schander, R., Die im Jahre 1906 in den Provinzen Posen und Westpreußen beobachteten Krankheiten und Schädlinge der Rübe, p. 617.
Schiller-Tietz, Die Empfänglichkeit der Kulturpflanzen für Schmarotzerkrankheiten, p. 604.
Schorler, B., Thallwitz, J. (mit Beiträgen von K. Schiller), Pflanzen- und Tierwelt des Moritzburger Großteiches bei Dresden, p. 596.
Schorstein, Josef, Ueber Polyporus vaporarius (Pers.), p. 609.
Seligmann, E., Ueber die Prüfung gereinigter Abwässer auf ihre Zersetzungsfähigkeit, p. 596.
Slaus-Kantschieder, J., Ueber die von der k. k. landwirtschaftlichen Lehr- und Versuchsanstalt in Spalato im Jahre 1906 beobachteten Pflanzenkrankheiten und tierischen Schädiger, p. 605.
Sorauer, Der Rosenkrebs, p. 618.
Transschel, W., Kulturversuche mit Uredineen im Jahre 1906, p. 608.
Traverso, J. B., Flora italica cryptogama. Pars I. Fungi, p. 610.
Trotter, A., Su la struttura istologica di un micocecidio prosoplastico, p. 619.
v. Tubeuf, Perennieren des Aecidienmycels vom Birnenrostpilz, p. 618.
Voglino, P., Sur lo sviluppo e sul parassitismo del Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderhold, p. 606.
Vosseler, J., Die Feinde der Kokospalme, p. 611.
—, Der Nutzen der angewandten Entomologie, p. 619.
—, Noch einmal die Kräuselkrankheit, p. 622.
—, Die Baumwollkäfer-Ameise aus Guatemala, p. 623.
—, Eichhörnchen als Baumwollverderber, p. 624.
Wildeman, E. de, Les maladies du caféier au Congo indépendant, p. 612.
Wurth, Th., Ueber neue Rostpilze auf Galium, p. 607.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Guéguen, F., Emploi du Sudan III comme colorant mycologique, p. 625.
Hansen, Einige Farbfilter sowie einige histologische Färbungen für mikrophotographische Aufnahmen, p. 625.
Hilgermann, R., Ueber die Verwendung des Bacillus prodigiosus als Indikator bei Wasseruntersuchungen, p. 625.
Schneider und **Kunze**, Spinnfasern und Färbungen im Ultramikroskop, p. 626.
Schorr, Ein neues Modell eines einfachen beweglichen Objekttisches, p. 625.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Eckstein, Maikäferverwertung, p. 636.
Henneberg, W., Einfluß von 12 Säurearten, von Alkohol, Formaldehyd und Natronlauge auf infizierte Brennerei- und Preßhefe, p. 626.
Wolf, Kurt, Abtötung von Bakterien durch Licht und Selbstreinigung der Flüsse, p. 635.

Neue Litteratur, p. 636.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 17. Oktober 1907.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 21|23.

Nachdruck verboten.

Ueber Abschwächung und Variabilität

bei Bacillus luteus Smith et Baker (Bacillus luteus sporogenes R. T. Wood Smith and Julian L. Baker) und Bacillus tumescens Zopf.

[Aus dem botanischen Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. Arthur Meyer).]

Von Ing. Chem. Dr. **Ludwik Garbowski.**

Mit 2 Tafeln und 4 Figuren.

Inhaltsübersicht.

Einleitung. — I. Beschreibung von Bacillus luteus. 1. Methodisches. 2. Entwickelung auf normalem Agar bei 28°. 3. Entwickelung auf $^1/_8$ Agar. 4. Entwickelung auf normalem und $^1/_8$ Dextroseagar. 5. Entwickelung auf natürlichen Substraten: Kartoffel, Möhre. 6. Entwickelung in flüssigen Nährmedien, Säure- und Alkaliproduktion etc.

II. Ueber Farbstoffproduktion und Sporenbildung bei Bac. luteus. 1. Einfluß der Reaktion des Nährbodens. Entwickelung auf mineralischem Nähragar. 2. Einfluß der Alkalität des Nährmediums. Entwickelung auf alkalischem Agar. 3. Entwickelung auf Kasein. Stellung von Bac. luteus unter den farbstoffbildenden Bakterien. 4. Eigenschaften des gelben Farbstoffs.

III. Die wichtigsten Merkmale von Bac. luteus.

IV. Eigenschaften des von mir isolierten Bacillus tumescens. 1. Nachkeimung der Sporen. Bildung sekundärer Kolonieen. Entwickelung auf mineralischem Nähragar. 2. Einige diagnostische Merkmale von Bac. tumescens.

V. Einfluß der Temperatur auf die Entwickelung von Bac. luteus und Bac. tumescens. 1. Versuche bei 0°. a) Verhalten der Sporen. b) Verhalten der vegetativen Formen. 2. Versuche bei 7—9°. 3. Entwickelung bei Zimmertemperatur (14–24°). 4. Entwickelung bei höheren Temperaturen. Die Kardinalpunkte für Bac. luteus und Bac. tumescens.

VI. Wirkung chemischer Abschwächungsmittel. Phenol, Kaliumbichromat, Kupfersulfat. 1. Entwickelung auf Agar mit Phenol. 2. Entwickelung auf Agar mit Kaliumbichromat. 3. Entwickelung auf Agar mit Kupfersulfat. 4. Abschwächung durch eine kombinierte Wärme- und Giftwirkung.

VII. Verhalten der normalen und abgeschwächten Stämme von Bac. luteus und Bac. tumescens gegen verschiedene Sauerstoffkonzentration. 1. Versuche unter Druck. 2. Versuche im Vakuum.

VIII. Allgemeine Resultate.

Anhang. Versuche über chemische Zusammensetzung der Membran bei den Bakterien und deren Sporen.

Einleitung.

Der Begriff der Abschwächung (atténuation) ist in die Bakteriologie von Pasteur eingeführt worden. Pasteur hat zuerst (1880) die Beobachtung gemacht, daß eine pathogene Bakterienspecies nicht immer auf gleiche Weise die von ihr befallenen Organismen schädigt und er lernte auch bald künstliche Abschwächungsmittel der gefährlichen Virus kennen. „Dadurch, daß Pasteur Wege fand, die Virus abzuschwächen — sagt Nicolle in seinen ‚Grundzügen der allgemeinen Mikrobiologie‘ — wurde eine Prophylaxe der Infektionskrankheiten auf wissenschaftlicher Grundlage möglich.“

Beim Studium der Abschwächungserscheinungen bei den Bakterien kam es in erster Linie auf ihre pathogenen Wirkungen an. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß „der Verlust der Virulenz mit einer allgemeinen Degeneration des Bakterienstammes verbunden ist“ (Gün-

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1906). Diese Degeneration äußert sich darin, daß die betreffenden Bakterien langsamer wachsen, später Sporen bilden, empfindlicher gegen schädigende Einflüsse werden u. s. w. (Smirnow 1888).

Unter den verschiedenen Abschwächungserscheinungen ist ferner besonders der Verlust der Fähigkeit, Sporen zu erzeugen, als eine sehr tief in die Lebensfunktionen des entsprechenden Organismus eingreifende Aenderung zu verzeichnen. Diese Erscheinung wurde zuerst von Pasteur an dem bei 42—43° kultivierten Bacillus anthracis beobachtet (1881). Bei Erniedrigung der Temperatur kehrte auch das Sporenbildungsvermögen in den Kulturen wieder. Bald darauf (1883) erhielten Chamberland und Roux die erste sogenannte „dauernd asporogene Rasse" vom Milzbrandbacillus durch Kultur in Bouillon mit Zusatz von $^1/_{2000}$ Kaliumbichromat. Der erhaltene Stamm ist — nach der Angabe der Autoren — nie zur Sporenbildung gekommen, ebenso keine von den Kulturen, die von ihm angelegt waren. Selbst nach einmaliger „Kaninchenpassage" hat der Organismus sein Sporenbildungsvermögen nicht wiedergewonnen. In Bouillon, welche mit dem Kaninchenblut geimpft war, entwickelten sich reichliche Anthrax-Kulturen, welche aber sämtlich nicht zur Fruktifikation kamen und nach Verlauf von 30—40 Tagen eingingen. Später wurden solche „asporogene" Milzbrandkulturen auch von anderen Forschern, und zwar von Roux, Phisalix, Behring, Surmont und Arnould u. A., erhalten.

Außer bei Bac. anthracis und den von E. Chr. Hansen erzeugten asporogenen Heferassen ist der Verlust der Fähigkeit, Sporen zu erzeugen, in der Mikroorganismenwelt nur selten beobachtet worden.

Nach der Angabe von Winogradsky (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 48) zeigen diese Erscheinung alte Kulturen von Clostridium Pastorianum auf Kartoffel und auf Mohrrübe. Nach und nach verliert der Organismus unter diesen Bedingungen sein Sporenbildungsvermögen. „Endlich wird das Mikrobium gänzlich asporogen. Ist einmal die Sporenbildung verschwunden, so gelang es mir nicht wieder dieselbe zu restituieren. Es hatte sich dann gleichsam eine asporogene Varietät gebildet, in welcher man die frühere charakteristische Art kaum mehr erkannte. Nicht nur morphologisch war sie nicht mehr die frühere, sondern auch physiologisch, und das möchten wir besonders hervorheben. Man hatte nun eine „abgeschwächte" Varietät vor sich, welche, was ihre Gärkraft und besonders ihre Fähigkeit, elementaren Stickstoff zu assimilieren, anbebetrifft, nicht mehr leistungsfähig war". Eine Neigung zum Verlust der Fähigkeit, Sporen zu bilden, soll auch der Bacillus der blauen Milch aufweisen (Lafar 1894. Bd. I. p. 110).

Bac. anthracis ist bekanntlich als Parasit asporogen. „Es kommt nicht selten vor, daß Milzbrandkulturen plötzlich hinsichtlich der Sporenbildung versagen, ohne daß eine Ursache hierfür nachgewiesen werden könnte ..., bis plötzlich wieder aus ebenso unbekannten Ursachen ... Sporen in der gewünschten Weise gebildet werden" (Sonderheim im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Bd. II. 1903. p. 27). Man könnte daher meinen, daß die Möglichkeit, verhältnismäßig leicht durch chemische oder physikalische Momente die Erscheinung der Asporogenie bei Bac. anthracis herbeizuführen, mehr durch die Bedingungen der künstlichen Kultur überhaupt und vielleicht auch durch die spezifische Variabilität von diesem Organismus in Bezug auf das Sporenbildungsvermögen, als gerade durch die-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jenigen verschiedenen äußeren Agentien, deren Wirkung sie meist zugeschrieben wird, verursacht wird.

Auf die „extreme Widerstandsfähigkeit einiger Varietäten von Bac. anthracis gegenüber Agentien, welche zu asporogenen Rassen führen", machen auch Surmont und Arnold (Ann. Past. 1894. Bd. XIII. p. 817) aufmerksam.

In der Variabilität von Bac. anthracis ist wahrscheinlich auch die Ursache der zum Teil einander widersprechenden Ergebnisse der Versuche verschiedener Forscher zu suchen; so z. B. konnten Surmont und Arnould weder die Resultate von Behring (asporogene Wirkung von verdünnter Salzsäure und Rosolsäure), noch diejenigen von Chamberland und Roux (Wirkung von Kaliumbichromat) bestätigen.

Der Verlust der Fähigkeit, Sporen zu erzeugen, kann in verschiedenem Grade in einem Bakterienstamm sich äußern. Es wären hier folgende 3 Fälle zu unterscheiden:

a) Dauernde Asporogenie lebensfähiger Stämme. Die Fähigkeit, Sporen zu bilden, geht vollständig verloren und wird selbst in den optimalen Bedingungen für die Sporenbildung nicht wieder restituiert, der Organismus selbst aber bleibt gesund und entwickelungsfähig.

Fälle solcher Asporogenie sind — wie es scheint — mit Sicherheit bis jetzt nicht bekannt.

b) Dauernde Asporogenie absterbender Stämme.

Hierher wären der beschriebene Fall der Asporogenie von Bac. anthracis und andere ähnliche Fälle zu rechnen.

Es muß aber hervorgehoben werden, daß es schwer ist, auf Grund der von den Autoren gegebenen Beschreibungen sich ein klares Bild darüber zu machen, ob in der Tat der asporogen gewordene Stamm in optimale Bedingungen bezüglich der Sporenbildung (Nährstoffgehalt, günstige Sauerstoffkonzentration etc.) nachträglich versetzt wurde.

c) Vorübergehende Asporogenie oder zeitweilige Verhinderung der Fruktifikation, welche durch verschiedene Momente (Reaktion des Nährbodens, Fehlen von bestimmten Nährstoffen etc.) in einer Kultur hervorgebracht werden kann, verschwindet aber sofort nach der Entfernung des störenden Momentes.

Dieselben 3 Fälle lassen sich auch beim Verlust der Fähigkeit der Farbstoffproduktion unterscheiden.

Die Variabilität der Farbstoffbildung bei den Bakterien wurde auch mit Vorliebe untersucht. Man hat mehrmals sogenannte farblose Rassen der verschiedenen, farbig sich entwickelnden Bakterienspecies erhalten. Die Bedingungen ihrer Gewinnung sind meist solche, die eine allgemeine Schwächung der Organismen herbeiführen, wie z. B. die Wirkung von direktem Sonnenlicht, eine kurze Erhitzung auf ca. 60° [Laurent (1890), Gessard (1891)] u. dergl. Dementsprechend verhalten sich auch diese künstlichen „Rassen" wie wahre, dem vollständigen Dahingehen nahestehende Schwächlinge. So z. B. charakterisiert Laurent (Ann. Past. 1890. Bd. IV. p. 465) seine farblosen Kulturen des roten Kieler Bacillus auf folgende Weise: „Cette nouvelle variété est fort débile et peut être considérée comme le produit d'une véritable dégénérescence."

In Bezug auf das Verhalten solcher farblos gewordenen, nicht lebensfähigen Stämme gilt dasselbe, was bei der entsprechenden Gruppe der Asporogenie (b) bemerkt wurde. Ob die Fähigkeit der Farbstoffproduktion dauernd verloren gegangen ist, könnte man nur dann entscheiden, wenn der betreffende Stamm sie auch beim Versetzen in die optimalen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bedingungen für die entsprechende Funktion nicht wieder zeigte, was bis jetzt bei den Untersuchungen meist nicht genug beachtet wurde.

Viel öfter als diese dem Absterben nahestehenden farblosen Kulturstämme sind aus den farbstoffbildenden Bakterien farblose Ernährungsmodifikationen erhalten worden, welche stets zum normalen Typus zurückkehren, sobald die Kulturbedingungen (chemische Zusammensetzung des Nährmediums, Temperatur etc.) geändert werden. Bacterium prodigiosum und Bacillus pyocyaneus seien als Beispiele erwähnt.

Ebenso wie mit der Virulenz und Farbstoffproduktion verhält es sich auch mit der Gärungsfähigkeit der Bakterien. Es wurden besonders die Milchsäurebakterien in dieser Beziehung genauer untersucht (Schierbeck 1900), mit dem allgemeinen Ergebnis, daß es auch hier möglich ist, durch äußere Einwirkung (Züchtung auf Milch mit Karbolsäurezusatz) abgeschwächte „Varietäten" zu erhalten, welche sich bezüglich der Gärungsfähigkeit mehr oder weniger „konstant" verhalten, d. h. deren Gärungsvermögen, einmal herabgesetzt, in den gewöhnlichen Kulturbedingungen nicht wieder auf die ursprüngliche Höhe steigt.

Zu erwähnen sind hier ferner die von Weil (1901) dargestellten Stämme des Kartoffelbacillus, dessen Sporen einen bestimmten Resistenzgrad gegen strömenden Dampf zeigten. Durch einmaliges Erhitzen der Sporen während einer bestimmten Zeit kann man ihre natürliche Resistenz auf ein bestimmtes Maß herabsetzen, aber die Widerstandskraft der von diesen stark geschwächten Mesentericus-Sporen herangezüchteten Kulturen verhielt sich „trotz günstiger Kulturbedingungen" nur zum Teil „konstant"; in einigen Fällen fiel sie von selbst weiter (von 9 Minuten auf 4) — und so sieht man auch hier das unter dem Schleier der „Selektion" verdeckte Moment der Schwächung herausragen. Die von Weil dargestellten „künstlichen Rassen von verschiedenem Resistenzgrade" sind nichts anderes als stark abgeschwächte langsam eingehende Stämme.

Einen besonderen Rang in der Reihe dieser künstlichen „Rassen" und „Varietäten" beanspruchen die von Neumann (1897) auf dem Wege der Selektion aus Micrococcus (Staphylococcus) pyogenes aureus erzeugten Stämme von citronengelber, fleischiger und weißer Farbe. Sie werden mit den verschiedenfarbigen Blütenstämmen einer Species verglichen (Alfr. Fischer). Zu betonen ist aber auch hier die merkwürdige überall gleichsinnige Divergenz der neugezüchteten Modifikationen im Vergleich mit dem Mutterstamm: die Säureproduktion ist von 3 ccm normaler NaOH in 100 ccm Bouillon auf 1,2 ccm gefallen, die ursprünglich „starke" Schwefelwasserstoffentwickelung auf „so gut wie nichts" reduziert, die Gelatineverflüssigung von „schnell" auf „langsam" übergegangen u. s. w.

Wenn wir annehmen, daß das orangegefärbte Aussaatmaterial aus lauter orangefarbigen Individuen bestanden hätte, so würde aus dieser Abschwächung der Eigenschaften zu schließen sein, daß das Auftreten der farblosen, citronengelben und rosafarbigen Individuen im Zusammenhange mit der allgemeinen Abschwächung stände. Für diesen Zusammenhang spräche auch das Verhalten der aus dem rosafarbenen Stamm wiederum hervorgegangenen hellorange gefärbten Rasse, welche „zwischen der ursprünglichen orange Art und den neugezüchteten weißen, gelben und rosafarbenen Modifikationen eine Mittelstellung einnahm": die Schwefelwasserstoffausscheidung ist gestiegen, die Säureproduktion nahm

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch zu, Gelatineverflüssigung wurde deutlicher u. s. w. Leider könnte gegen die ganze Arbeit der Einwand gemacht werden, daß das Ausgangsmaterial von vornherein ein Gemisch aus verschiedenen Species oder konstanten Rassen darstellte. Wollte man solche Versuche ganz einwandsfrei machen, so müßte man von einem einzigen Individuum ausgehen.

Sieht man von diesem Einwande ab, dann wäre wohl anzunehmen, daß wir es hier mit einer Auslese von wirklichen Varianten der Species zu tun hätten.

Die Variabilität der Bakterien in morphologischer Beziehung, vereinzelte Angaben von Guignard und Charrin (1887), Maassen (1904) u. A. ausgenommen, ist systematisch bis jetzt nicht untersucht worden.

Des öfteren wurden oben die Ausdrücke „Variabilität", „Rasse", „Varietät" gebraucht; es wird daher vielleicht hier nicht überflüssig sein, die an sie anzuknüpfenden Vorstellungen etwas näher zu präzisieren.

Hugo de Vries („Arten und Varietäten" 1906) gibt „drei große Quellen der Variabilität" im Pflanzenreiche an:

a) Vielgestaltigkeit der Art (spontane Variation oder Mutation),
b) Kreuzung,
c) fluktuierende Variabilität (individuelle und partielle Variation).

Für die Bakterien ist das Moment der Kreuzung einstweilen auszuschließen, die zwei anderen aber, wie aus dem oben gesagten folgt, werden meist nicht streng auseinander gehalten. Alle die in der Literatur angeführten Fälle der Zerlegung einer bestimmten Bakterienspecies in „Rassen" oder „Varietäten" sind sehr weit entfernt davon, Zerlegungen in spontan entstehende und konstant bleibende Unterarten oder Varietäten, wie die von Draba verna, Capsella Heegeri etc., zu sein. Nicht einmal den auf dem Wege der Selektion erzeugten Kulturrassen (Getreidesorten, Zuckerrübe etc.) sind sie gleichwertig.

Die bis jetzt untersuchten Fälle von Variabilität[1]) bei den Bakterien fallen insgesamt in das Gebiet der fluktuierenden Variationen oder Fluktuationen und entsprechen am meisten den sogenannten partiellen oder Knospenvariationen im Pflanzenreiche. Die erwähnten verschieden gefärbten oder farblosen Rassen Neumanns bilden — wenn der oben erwähnte Einwand nicht Geltung hat — vorzügliche Beispiele für die sogenannte „ungeschlechtliche Vermehrung der Extreme".

Die Entscheidung darüber, ob und inwiefern sich bei den sporenbildenden Bakterien eine Art Sporenvariation entsprechend der pflanzlichen Samenvariation zur Heranzüchtung „veredelter" künstlicher Rassen verwenden läßt, bleibt der Zukunft vorbehalten.

Die Erscheinungen der Variabilität bei den Bakterien lassen sich, wie alle anderen fluktuierend variierenden Erscheinungen, mit Hilfe der statistischen Methode untersuchen. „Das Verfahren ist so einfach, so überzeugend, und so völlig unabhängig von irgend welcher mathematischen Entwickelung, daß man es in allen Fällen anwenden sollte, in welchen es erwünscht ist, den Durchschnittswert irgend eines Organes und die Größe der begleitenden Abweichungen zu ermitteln" (H. de Vries, „Arten und Varietäten" S. 448).

Im folgenden soll diese Methode bei der Untersuchung der Abschwächungs- und überhaupt der Variabilitätserscheinungen bei zwei gut

1) Ueber eine Reihe von Arbeiten, welche sich mit der „Pleomorphismusfrage" bei den Bakterien (Olsen, Schürmayer, Winkler u. A.), ihrer „heterodoxen Entstehung" (Fokker) u. s. w. beschäftigen, ist kein Wort mehr zu verlieren.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

definierten Bakterienspecies, Bacillus luteus (Bac. luteus sporogenes R. T. Wood Smith and Julian S. Baker) und Bacillus tumescens Zopf, Anwendung finden.

I. Beschreibung von Bacillus luteus Smith et Baker (Bac. luteus sporogenes R. T. Wood Smith and Julian L. Baker)[1].

1. Methodisches.

Bei der Untersuchung der Entwickelung von Bac. luteus ging ich nach den von Prof. Arth. Meyer und seinen Schülern ausgearbeiteten Methoden vor, mit dem einzigen Unterschied, daß ich die übliche „Abkochung“ der Sporen (Gottheil 1901, Neide 1904) nicht anwendete, und zwar aus zwei Gründen: Erstens fruktifizierten die von mir untersuchten Species auf einem geeigneten Nährmedium ($^1/_8$ Agar) so vollkommen, daß ich immer über für meine Zwecke genügend reines Sporenmaterial verfügte und zu keinen besonderen Mitteln zwecks Reinigung des Aussaatmaterials von vegetativen Formen Zuflucht zu nehmen brauchte, und zweitens weil ich mich überzeugte, daß der Entwickelungszyklus von Spore zu Spore bei dem nicht abgekochten Material rascher und vollkommener sich in der ganzen Kultur abspielte, als bei dem auch nur ganz kurz abgekochten.

Die Nährböden und die Kulturflüssigkeiten sind nach den Angaben von Prof. Arth. Meyer („Praktikum der botanischen Bakterienkunde“. p. 27) und Gottheil („Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien“. p. 3) dargestellt worden.

Zum Erhalten einer möglichst gleichmäßigen Entwickelung in der ganzen Kultur ist eine gleichmäßige Aussaat nicht ohne Bedeutung. Die üblichen „Strichkulturen“, deren makroskopisches Aussehen (Ausbildung des Randes etc.) bekanntlich mit zur Charakteristik der Species gehört, eignen sich für die mikroskopische Untersuchung der Entwickelung nicht: das Wachstum erfolgt hier nicht gleichmäßig auf der ganzen Oberfläche, sondern breitet sich allmählich von der Strichlinie aus, so daß die verschiedenen Entwickelungsstadien, Schwärmer, Ruhestäbe, Sporangien, schließlich reife Sporen gleichzeitig auf den verschiedenen Stellen der Kolonie auftreten; im mittleren Teil, auf der Strichlinie selbst, wird man schon ausgereifte Sporen finden, während am Rande rein vegetatives Wachstum noch länger oder kürzer andauert. Diese Ungleichmäßigkeit der Entwickelung einer Agarkultur, welche zum Teil durch äußere Kulturbedingungen, und zwar hauptsächlich durch verschiedene Dicke der Nährbodenschicht und Feuchtigkeitsunterschiede in derselben bedingt wird, zum Teil aber durch die von den Bakterien selbst während der Entwickelung ausgeschiedenen Hemmungsstoffe (Eijkmann 1904, Conradi und Kurpjuweit 1905) resp. das Wachstum beschleunigenden Reizstoffe (Rahn 1906) verursacht wird, läßt sich bis zu einem gewissen Grade dadurch überwinden, daß man von vornherein für eine gleichmäßige Verteilung des Aussaatmaterials auf der Agaroberfläche sorgt und so auch die gegenseitige Beeinflussung der Organismen auf diese Weise gewissermaßen gleichmäßig macht. Eine derartige gleichmäßige Verteilung des Aussaatmaterials auf der Nährbodenoberfläche läßt sich erreichen, wenn man das Sporenmaterial, anstatt — wie gewöhnlich — direkt auf der Oberfläche mit der Oese auszustreichen,

1) Die Kultur von Bac. luteus wurde von Hr. Král-Prag bezogen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 17:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in das Kondenswasser einträgt, dort möglichst zu einer gleichmäßigen Emulsion verteilt und erst dann durch Umschwenken des Röhrchens, eventuell mit Hilfe der Oese zur Benetzung der ganzen Oberfläche anwendet. Je nach der Menge des Sporenmaterials erhält man entweder eine lückenlos mit dem Pilzüberzuge bedeckte, oder mit voneinander getrennten Einzelkolonieen bewachsene Kultur; die erste wird im folgenden als „dichte“, die zweite als „dünne Aussaatkultur“ bezeichnet.

Wegen der großen Bedeutung, welche der Sporengröße für die Speciesdiagnose der Bakterien zugeschrieben wird (Prażmowski, Koch, Arth. Meyer, Gottheil, Neide u. a.) habe ich bei der Bestimmung derselben das subjektive Moment möglichst auszuschalten versucht.

Wie jedes beliebige biologische sogenannte meristische Merkmal unterliegt die Sporengröße einer Bakterienspecies überhaupt und einer bestimmten Kultur dieser Species im speziellen gewissen Schwankungen, welche als fluktuierende Variationen bezeichnet werden und im allgemeinen darin bestehen, daß sich die verschiedenen Varianten um einen bestimmten Durchschnittstypus, wie „um ein Zentrum größter Dichte symmetrisch gruppieren“ (De Vries, „Mutationstheorie“, 1901, I, p. 375). Graphisch lassen sich diese Verhältnisse durch die „Variabilitätskurve“ der entsprechenden fluktuierenden Eigenschaft darstellen.

Ein klares und dem natürlichen Tatbestand entsprechendes Bild der Sporengröße, ihres Mittelwertes und ihrer Variationsbreite ist nur durch Anwendung der genannten statistischen Methode bei der Messung erhältlich. Die Messung selbst wurde auf folgende Weise ausgeführt: eine Spur des gut ausgereiften Sporenmaterials wurde in einem winzigen Wassertröpfchen auf dem Objektträger verteilt und mit dem Deckgläschen leise, ohne zu drücken, bedeckt. Das Wassertröpfchen muß so klein sein, daß sich keine Brownsche Bewegung einstellt, welche ein genaues Abzeichnen der Objekte unmöglich macht, die Menge des aufgetragenen Materials so bemessen, daß die einzelnen Individuen isoliert in nicht zu großer Entfernung voneinander zu liegen kommen. Von einem solchen Präparat sind ohne Auswahl alle Individuen, die bei einer gewissen Einstellung im Gesichtsfelde erschienen, mit Hilfe des Zeichenprismas abgezeichnet und das Gesichtsfeld so lange verändert, bis 100 Individuen abgezeichnet waren.

Die diesen hundert Einzelbestimmungen entsprechenden Mittelwerte (Galtons „Mediane“ s. De Vries, „Mutationstheorie“) für Länge und Breite sind jedesmal aus der erhaltenen Zahlenreihe durch Interpolation berechnet.

Daß die auf diese Weise sich ergebenden Zahlenwerte gut miteinander vergleichbar sind, beweisen folgende drei Bestimmungsreihen der Länge der Sporen von Bac. luteus, von denen zwei (I und II) an den Sporen einer Kultur unabhängig voneinander vorgenommen wurden, die dritte (III) an einer anderen Kultur auf demselben Nährboden.

(Siehe Tabelle p. 648.)

Sehr anschaulich tritt die fast vollständige Identität des durch obige Zahlenreihen ausgedrückten Merkmals hervor, wenn man die ihnen entsprechenden theoretischen Durchschnittswerte[1]) miteinander vergleicht.

---

1) Die Berechnung des Mittelwertes („median magnitude“ — Davenport „Statistical methods etc.“ p. 14) geschieht bekanntlich unter der Voraussetzung einer kontinuierlichen Variation des entsprechenden Merkmals.

„To find its position: Divide the variates into three lots: those less than the

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 · Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Länge der Sporen in μ	Individuenzahl		
	Kultur A		Kultur B
	Messung I	Messung II	Messung III
1,0	1	—	1
1,2	7	10	3
1,4	15	19	23
1,6	23	20	23
1,8	26	26	24
2,0	17	15	12
2,2	9	6	6
2,4	2	4	7
2,6	—	—	1

Diese betragen:

$$M_{I} = 1{,}73\ \mu$$
$$M_{II} = 1{,}71\ \mu$$
$$M_{III} = 1{,}70\ \mu$$

2. Entwickelung auf normalem Fleischextraktpeptonagar bei 28°.

Die Sporen von Bac. luteus, welche auf dem normalen Fleischextraktpeptonagar (Arth. Meyer, „Prakticum" p. 27) zur Entwickelung gelangen, haben meist eine ovale Form, die größeren sind mehr länglich, die kleineren mehr rundlich. Die besonders gut ausgebildeten Individuen weisen eine bohnenförmige Gestalt auf mit der charakteristischen Einsenkung von einer Seite (Taf. I, Fig. 1). Durch das apochromatische Kompensationsokular 12 von Zeiß (Immersion 2 mm, Apert. 1,40) beobachtet, lassen sich an den Sporen Intine und Exine unterscheiden, wobei letztere bei den größeren Individuen von länglicher Gestalt entweder beiderseits an den Polen oder an einer Seite etwas dicker ausgebildet erscheint. Die Exine hebt sich bei mittlerer Einstellung durch eine dunklere Färbung ab.

Die Größenverhältnisse der Sporen einer gut ausgereiften, fünf Tage alten Kultur finden in folgenden Zahlenreihen ihren Ausdruck:

Länge μ	Individuenzahl
1,0	1
1,2	3
1,4	6
1,6	24
1,8	19
2,0	15
2,2	16
2,4	12
2,6	4

Breite μ	Individuenzahl
0,8	8
1,0	28
1,2	52
1,4	12

middle class, of which the total number is a; those of the middle class, b; and those greater, c. Then $a + b + c = n$ total number of variates. Let $l' =$ the lower limiting value of the middle class, and $l'' =$ the upper limiting value, and let $x =$ the abscissal distance of the median ordinate above the lower limit or below the upper limit of the median class according as x is positive or negative. Then $\frac{1}{2}n - a : b = x : l'' - l'$ when x is positive, or $\frac{1}{2}n - c : b = x : l'' - l'$ when x is negative."

Für die Messung I ist: $n = 100$; $a = 46$; $b = 26$; $c = 28$; $l' = 1{,}7$; $l'' = 1{,}9$.

Für das positive x berechnet man

$$x = \frac{4 . 0{,}2}{26} = 0{,}03 \text{ und } M = 1{,}7 + 0{,}3 = 1{,}73\ \mu.$$

Für das negative x:

$$x = \frac{22 . 0{,}2}{26} = 0{,}17 \text{ und } M = 1{,}9 - 0{,}17 = 1{,}73\ \mu.$$

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Entsprechend den obenerwähnten Unterschieden in der Form der größeren und kleineren Individuen ist die Amplitude der Variation der Länge viel größer als diejenige der Breite. Das Verhältnis der Länge zur Breite, welches bei den größten Individuen $\frac{2,6}{1,4} = 1,86$ beträgt (angenommen, daß der größten Länge auch die größte Breite entspricht, was nicht immer zutrifft), fällt bei den kleinsten auf $\frac{1,0}{0,8} = 1,25$.

Die berechneten Durchschnittwerte (Medianen) ergeben

für die Länge $M_l = 1,87\ \mu$
„ „ Breite $M_b = 1,15\ \mu$.

Die Anfänge der Keimung in einer dichten Aussaatkultur lassen sich schon nach Verlauf von 2 Stunden beobachten (Taf. I, Fig. 2). Das Keimstäbchen tritt aus der etwas angeschwollenen Spore nicht vollständig äquatorial aus. Es steht nie senkrecht zur Längsachse der Spore, sondern bildet mit ihr einen Winkel von etwa 60°. Das Keimstäbchen besitzt anfänglich ellipsoidale Gestalt mit vollkommen abgerundeten Enden; es wird bald cylindrisch, wobei die Enden immer gleichmäßig abgerundet bleiben. Nicht selten ist das Keimstäbchen sofort nach dem Austritt aus der Sporenhaut etwas gekrümmt. Die Dicke der Keimstäbchen beträgt 1,4—1,6 μ. Sie ist ziemlich konstant und nur selten sind etwas dickere Formen, bis etwa 1,8 μ, zu sehen.

Das Anlegen der ersten Teilungswand in den Keimstäbchen erfolgt in der Regel, nachdem sie eine Länge von 6—8 μ erreicht haben (Taf. I, Fig. 3), später aber sind die Verhältnisse in dieser Beziehung nicht mehr so regelmäßig, so daß nach Verlauf von 6—8 Stunden die Kultur aus Formen von sehr wechselnder Länge, bis zu 20—30 μ und darüber messenden Hyphen besteht (Taf. I, Fig. 4). In diesem Stadium nimmt die Dicke der Stäbchen im Vergleich zu derjenigen der Keimstäbchen etwas ab und beträgt bei den verschiedenen Individuen 1,0—1,4 μ.

Die große Mehrzahl der Formen, in den meisten Fällen sogar alle ohne Ausnahme, entwickeln sich in der beschriebenen Aussaatkultur als Ruhestäbe. Nur selten ist hier und da ein langsam schwärmendes Individuum zu sehen.

Die Unterdrückung des Schwärmerstadiums ist bei unserer Species, wie ich zeigen werde, auf zwei Momente zurückzuführen: erstens auf die gegenseitige Beeinflussung der Organismen, verursacht durch dichte Aussaat, sozusagen den Platzmangel, und zweitens auf ihre „Ueberfütterung“, verursacht durch große Konzentration der Nährstoffe. Eliminiert man den ersten Umstand durch entsprechende Verdünnung des Aussaatmaterials, so daß die einzelnen Kolonieen isoliert voneinander sich entwickeln können, so kommen die nicht sehr beweglichen Schwärmer nach Verlauf von 5—8 Stunden regelmäßig zum Vorschein. Wird die Kultur in diesem Stadium der Bruttemperatur entzogen und bei etwa 20° gehalten, so läßt sich durch Verlangsamung der weiteren Entwickelung das Schwärmerstadium zeitlich verlängern. Noch nach Verlauf von 24 Stunden kann man in diesem Fall Schwärmer beobachten.

Die Darstellung von Geißelfärbungspräparaten von Bac. luteus ist nicht leicht. Das folgt auch aus der Beschreibung von Smith und Baker, die nur 2—4 seitlich gelegene Geißeln nachweisen konnten. Immerhin läßt sich mit der üblichen Löfflerschen Färbungsmetode

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

beweisen, daß der Organismus 7—9 peritriche Geißeln entwickelt und somit zur Gattung Bacillus gehört (Taf. I, Fig. 5).

Makroskopisch macht sich auf der Oberfläche der Kultur erst nach Verlauf von etwa 6—8 Stunden ein leichter Flaum bemerkbar. Ungefähr in derselben Zeit beginnt die Speicherung von Reservestoffen. In den bis dahin homogen erscheinenden Stäbchen treten Körnchen auf, welche bald stellenweise zu Kügelchen, deren Durchmesser der Stäbchendicke fast gleich kommt, heranwachsen. Diese Gebilde bestehen nur aus Fett, was durch ihre leichte Färbbarkeit mit Sudanlösung, Unveränderlichkeit bei Färbung mit verdünnter Methylenblaulösung, wobei die Membran und winzige, neben den ungefärbten Fetttröpfchen hervortretende „Plasmakügelchen" zuerst tingiert werden, schließlich vollständige Löslichkeit in Chloralhydratlösung bewiesen wird.

Andere Reservestoffe, wie Glykogen und Volutin, konnte ich im Bac. luteus weder in den Stadien seiner vegetativen Entwickelung, noch während der Fruktifikation nachweisen.

Die Sporenbildung in den reichlich mit Fett beladenen Stäbchen beginnt schon nach Verlauf von 14—16 Stunden. Die Sporangien sind entweder isoliert, cylindrisch oder etwas ellipsoidal angeschwollen, oder sie entstehen in Reihen längs dem Hyphenverlauf (Taf. I, Fig. 6). Im letzteren Fall sind die Trennungswände oft kaum zu sehen, so daß man den Eindruck einer mehrsporigen Hyphe bekommt. Mit Hilfe von Methylenblaulösung läßt sich aber nachweisen, daß eine Abgrenzung des Sporangium vom übrigen Hyphenteil nie fehlt. In längeren Hypen werden die Sporen nicht selten nur an den Enden angelegt; der mittlere Teil bleibt längere Zeit steril. Auch in diesem Fall fehlt eine Abgrenzungswand an dem Sporangium nicht.

In Kulturen, welche gute Bedingungen für die Entwickelung der Schwärmer aufweisen, sind schwärmende Sporangien, einzeln oder in nicht langen Reihen, keine Seltenheit. Die Länge eines Sporangiums variiert zwischen 3 und 6 μ, die cylindrischen haben einen Querdurchmesser von 0,8—1,4 μ; die ovalen sind etwas dicker, überschreiten aber in der Regel 1,6 μ nicht.

Die Spore ist gewöhnlich einem Sporangiumende etwas näher gerückt, oft — namentlich in den etwas angeschwollenen ovalen Stäbchen — etwas schief zur Längsachse des Sporangiums gelegt. Schon im Sporangium weist sie nicht selten eine sanfte Einsenkung in der Mitte an einer Seite auf, wodurch sie ausgesprochen bohnenförmige Gestalt annimmt. Beim Verfolgen der Sporenbildung einer Kultur fällt es auf, daß die zuerst angelegten Sporen zur besseren Ausbildung gelangen, als die später entstehenden; von den ersten rekrutieren sich die großen, ovalen oder bohnenförmigen Individuen, die kleinen rundlichen entstehen zuletzt.

Das makroskopische Aussehen der in Rede stehenden Kultur bietet wenig Charakteristisches: der gleichmäßig entwickelte Pilzüberzug ist schwach glänzend, von schmutzig weißgrauer Farbe, mit einem Stich ins Gelbe. Die graue Farbe bleibt auch nach Ausreifung der Sporen erhalten; später wird sie etwas bräunlich-rötlich. Nur dicht über dem Kondenswasser, wo vegetatives Wachstum am längsten anhält, läßt sich eine etwas deutlichere gelbe Färbung der Bakterienfläche wahrnehmen.

Obwohl nach 24-stündiger Entwickelung bei 28° die Kultur zum größten Teil aus ausgereiften Sporen besteht, dauert in ihr das vegetative Wachstum immer fort und noch nach 48 Stunden kann man neue Sporangien neben sporenfreien fettreichen Stäbchen finden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am dritten Tage hört schließlich die Entwickelung im größten Teil der Kultur auf. Man sieht jetzt lauter reife Sporen; nur ganz selten kommen noch vegetative Nachzügler vor, viele verunstaltet, von bakteroidal verzweigten Formen, mit keulen- oder kugelförmigen Anschwellungen und dergl. (Taf. I, Fig. 7).

Eine, sozusagen, latente vegetative Entwickelung spielt sich aber in der Kultur noch immerfort ab. Sie kommt am 5. oder 6. Tage makroskopisch in der Entwickelung sogenannter sekundärer Kolonieen zum Vorschein.

Die Entstehung sekundärer Bakterienkolonieen wurde an verschiedenen Arten von Serkowski 1901, Preisz 1903 und Eisenberg 1906 beobachtet. Die vom Bac. luteus auf Agar gebildeten entsprechen vollständig den von Preisz an den Kulturen von Bac. anthracis studierten „sekundären Oberflächenkolonieen“. Sie erscheinen ebenso in Form winziger Pünktchen zuerst im oberen Teil der Agarfläche, dann allmählich auch in den niederen Regionen, nehmen sehr langsam an Umfang zu, erreichen aber höchstens etwa 1—1,5 mm im Durchmesser und sind deutlich gelb gefärbt. Zuweilen besaßen sie auch hier, z. B. auf Kartoffelkulturen, einen geringelten Bau, nämlich „ein erhabenes Zentrum, umgeben von einer ringförmigen Vertiefung, nach außen abermals von einem dickeren Wall“. Oefter stellen die älteren sekundären Kolonieen einfache winzige Ringe dar, indem der mittlere Teil abstirbt und sich einsenkt [1]).

Nach Ablauf der Entwickelung einer solchen sekundären Kolonie, was 2—3 Wochen in Anspruch nimmt, bleibt an ihrer Stelle eine kleine runde Lücke in dem die Agarfläche gleichmäßig bedeckenden Sporenüberzuge, gleichsam ein winziges Fensterchen, das in einen kleinen dunklen Ring eingerahmt ist. Diese Ringe entstehen wahrscheinlich dadurch, daß die sich kräftig vegetativ entwickelnden und später absterbenden Stäbchen der sekundären Kolonie die Sporen aus ihrer ursprünglichen Lage wegschieben; diese häufen sich allmählich am Rande der sekundären Kolonie an und bilden nach ihrem Absterben den dunklen Ring.

Bei der mikroskopischen Untersuchung älterer ringförmiger sekundärer Kolonieen erkennt man, daß die Kolonie aus lauter unregelmäßigen, wenig Fett enthaltenden vegetativen Formen, von denen viele im Absterben begriffen sind, besteht (Taf. I, Fig. 8).

Sporenbildung habe ich in diesen sekundären Kolonieen nicht beobachtet [2]).

---

1) Preisz nimmt an, daß „die sekundären Kolonieen ihre Entstehung der Auskeimung und Wucherung von Sporen verdanken; es sind Kolonieen, die am primären Rasen, aus Sporen desselben hervorgegangen sind, Kolonieen zweiter Generation aus den erstgebildeten Sporen“. Die Richtigkeit dieser Annahme wird dadurch bewiesen, daß sekundäre Kolonieen auch dann gebildet werden, wenn die zum Teil ausgereifte Kultur eine Stunde auf 65° erwärmt wird. Darin, daß in Kulturen einiger nicht sporogener Bakterienarten, z. B. des Diphtheriebacillus, Vibrio Finkler-Prior und anderer auch sekundäre Kolonieen auftreten, erblickt Preisz „einen Beweis dafür, daß asporogene Bakterienarten auserlesene Individuen aufweisen können, deren Lebenskraft jene der Durchschnittsindividuen weit übertrifft . . .“ Dazu ist zu bemerken, daß die Möglichkeit des Auftretens solcher vegetativ sehr lebenskräftiger Individuen auch bei den sporogenen Arten nicht ausgeschlossen ist.

Die Entstehung sekundärer Kolonieen ist — wie ich mich überzeugt habe — in manchen Fällen von der Konzentration der Nährstoffe im Substrat abhängig. Bac. luteus und Bac. tumescens bilden sekundäre Kolonieen auf dem sogenannten „normalen“ Agar, auf $^1/_3$ Agar dagegen (1 Teil norm. Agar + 2 Teile wäßrige Agarlösung) nicht.

2) Die Entstehung der sekundären Kolonieen nur aus Sporen der primären Kolonie

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Agarstrichkultur. Nur in dem jüngsten Entwickelungsstadium, wo makroskopisch vom Wachstum noch nichts zu sehen ist, breitet sich der Organismus zu beiden Seiten des Ausstrichs aus und nimmt einen gewissen Teil der Nährbodenfläche in Anspruch. Die Wuchsfläche erstreckt sich nie vom Rande zum Rande, sondern stellt einen Streifen, dessen Breite 0,5—0,8 cm nicht übersteigt, dar. Nach vollendeter Entwickelung war der Pilzstreifen deutlich mit einer welligen Linie ohne tiefe Ausbuchtungen umrandet, unten breiter und abgerundet, nach oben zu schmäler. Die Farbstoffproduktion ist sehr schwach. Der anfangs weißgraue, schwach glänzende Pilzrasen bekommt nach der Ausreifung den üblichen bräunlich-rötlichen Ton. Die erwähnte, in älteren Kulturen sich einstellende Entwickelung sekundärer vegetativer Kolonieen findet in der Strichkultur zuerst längs der Ausstrichlinie statt[1]), so daß auf der Wuchsfläche einer 1—2 Wochen alten Kultur sich eine aus gelben Pünktchen oder kleinen Ringen bestehende Mittelrippe erhebt.

Agarstichkultur. Längs des Stichkanals findet keine Entwickelung statt. Das vegetative Wachstum auf der Oberfläche dauert sehr lange. In älteren Kulturen (über eine Woche) färben sich die obersten Agarschichten deutlich gelb. Der Farbstoff diffundiert sehr langsam in tiefere Regionen. In einer 3—4 Wochen alten Kultur war die gefärbte Schicht etwa 2—3 cm hoch.

3. Entwickelung auf $^1/_3$ Fleischextrakt-Peptonagar bei 28°.

Die lange Dauer der vegetativen Entwickelung auf normalem Agar ebenso wie das Entstehen sekundärer Kolonieen auf der schon ausgereiften Bakterienfläche deutet darauf hin, daß die Nährstoffkonzentration für den entsprechenden Organismus zu hoch ist. Setzt man die Konzentration der Nährstoffe auf $^1/_3$ der ursprünglichen Menge herab ($^1/_3$ norm. Fleischextr.-Peptonag. + $^2/_3$ wäßrige 1,6-proz. Agarlösung), so erhält man ein Medium, auf welchem der Entwickelungszyklus von Bac. luteus deutlicher abgegrenzt und nicht durch den verspäteten Nachwuchs gestört wird. In einer dichten Aussaatkultur beginnt auch hier die Keimung schon nach Verlauf von 2 Stunden. Die einzelnen Stadien der Entwickelung entsprechen im allgemeinen vollständig denjenigen auf normalem Agar. Etwas deutlicher tritt das Schwärmerstadium nach 5 bis 6 Stunden hervor. Die ersten Sporenanfänge kann man schon nach 9—10 Stunden beobachten. Nach 14—16 Stunden besteht die Kultur hauptsächlich aus Sporangien neben einigen fertigen Sporen. Nach 24 Stunden sind die Sporen fast allgemein ausgereift und nur von wenigen vegetativen Formen begleitet. Diese letzteren verschwinden im Laufe der folgenden 12—24 Stunden fast vollständig, so daß die Agaroberfläche nur mit dem schwach glänzenden, grauen, etwas ins Braunrötliche spielendem Sporenbelag bedeckt bleibt. Entwickelung sekun-

---

als erwiesen betrachtend, schließt Preisz „per anlogiam, daß die aus sekundären Kolonieen zuweilen auswachsenden tertiären Knötchen aus Sporen der sekundären Kolonieen hervorgehen“. Die Entstehung von Sporen in den sekundär sich entwickelnden Kolonieen hat Preisz direkt nicht beobachtet.

Bildung von tertiären Kolonieen habe ich an den von mir untersuchten Species nicht gesehen.

1) Man beobachtet das besonders in dem Fall, wenn der Strich ziemlich dick angelegt wird, z. B. mit Hilfe einer Oese, nicht — wie gewöhnlich — mit der Nadelspitze.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

därer Kolonieen findet nicht statt. Deutliche Farbstoffproduktion läßt sich nicht konstatieren.

Die Durchschnittswerte für die Größenverhältnisse der Sporen sind etwas kleiner als diejenigen für normalen Agar. Für die Länge, nach den 3 Serien der Messungen (p. 647), berechnet man $Ml = 1{,}70—1{,}73\ \mu$; für die Breite der Serie I wurde folgende Tabelle gefunden:

Breite in μ	Individuenzahl
0,6	3
0,8	29
1,0	40
1,2	25
1,4	4

Der mittlere Wert für die Breite beträgt:

$$Ml = 0{,}99\ \mu.$$

Auch in diesem Fall kann man die Entwickelung durch eine dünne Aussaat beträchtlich verlangsamen.

Wird nur soviel Sporenmaterial aufgetragen, daß zerstreute isolierte Einzelkolonieen zur Entwickelung gelangen, so ist nach 10 Stunden makroskopisch noch kein Wachstum zu sehen. Auch mikroskopisch sind die ersten Keimstäbe nur schwer zu finden. Nach 24 Stunden haben sich isolierte Einzelkolonieen entwickelt; oben sind sie klein punktförmig, nach unten nimmt ihr Durchmesser allmählich zu. Einige von ihnen haben sich schwach gebräunt — ein Zeichen, daß in ihnen Sporenbildung schon eingetreten ist; mikroskopisch bestehen diese Kolonieen hauptsächlich aus Sporangien, reife Sporen sind noch nicht ausgebildet. Die Mehrzahl der Kolonieen ist weißgrau oder schwach gelblich gefärbt; die ersten bestehen hauptsächlich aus Schwärmern, die letzten stehen unmittelbar vor der Fruktifikation und weisen auch Schwärmer neben Ruhestäbchen auf. Nach 48 Stunden ist die große Mehrzahl der Kolonieen rötlichbraun gefärbt; sie bestehen in der Hauptsache aus reifen Sporen, von nur wenigen Sporangien und vegetativen Ruhestäbchen begleitet. Zwischen den braun gefärbten Kolonieen lassen sich noch hier und da nicht gebräunte, gelblich gefärbte finden, welche — wie gesagt — aus lauter vegetativen Formen, Schwärmern und Ruhestäbchen bestehen. Lediglich durch die dünne Aussaat läßt sich somit der ganze Entwickelungsgang um 10—40 Stunden verlangsamen.

4. Entwickelung auf normalem und auf $^1/_3$ Dextroseagar.

Der normale Dextroseagar ist der gewöhnliche Fleischextrakt-Peptonagar mit 1 Proz. Dextrosezusatz; mit $^2/_3$ wässeriger Agarlösung versetzt, gibt er den $^1/_3$ Dextroseagar.

Die ersten Entwickelungsstadien auf diesen Nährmedien entsprechen vollständig denjenigen auf Agar ohne Dextrose. Auch hier beginnt die Keimung in einer dichten Aussaatkultur etwa nach 2 Stunden bei 28°, die Schwärmer erscheinen (nicht regelmäßig) nach 5—6 Stunden und gehen bald in Ruhestäbchen über, welche reichlich Fett ansammeln. Die Fruktifikation setzt hier jedoch später ein; nach 24 Stunden haben sich in der Kultur auf $^1/_3$ Dextroseagar erst Sporangien ausgebildet: ausgereifte Sporen findet man nur ausnahmsweise; neben den Sporangien sind noch ziemlich viele vegetative Formen vorhanden. Die bis dahin weißgraue Bakterienschicht beginnt sich zu bräunen.

Zu derselben Zeit besteht die dicke, häutige, schwach gelblich ge-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

färbte Bakterienschicht auf normalem Dextroseagar noch hauptsächlich aus vegetativen Formen; dieselben stellen ein- oder mehrzellige, ziemlich lange Fäden, von denen einige an den Enden zugespitzt sind, dar; nur selten ist unter ihnen ein Sporangium zu treffen. Am folgenden Tage nimmt die Intensität der Färbung etwas zu. Man bemerkt nicht selten unregelmäßig verdickte und sich krümmende Formen (Taf. I, Fig. 9). Am 3. Tage sieht man, daß sich der gelbe Pilzüberzug im oberen Teile des Röhrchens zu verfärben beginnt; er wird zuerst schwach bräunlich, später immer dunkler bis zur ausgesprochen rötlich-braunen Farbe. Auch der Agar selbst nimmt, von oben beginnend, eine braune Farbe an. Am 4. Tage, d. i. nach 96 Stunden, erstreckt sich die braune Farbe etwa bis zur Hälfte der Agarfläche, deren unterer Teil noch rein gelb gefärbt bleibt. Die mikroskopische Untersuchung zeigt im oberen braunen Teile fast nur Sporen, mehr unten kommen die angeschwollenen kleinen Sporangien zum Vorschein (Fig. 9), während der gelbe Teil der Pilzfläche noch rein vegetatives Wachstum aufweist. Dieses ist so üppig, daß der Ueberzug unten sogar etwas faltig werden kann.

Die inzwischen vollständig ausgereifte Kultur auf $^1/_2$ Dextroseagar stellt eine gleichmäßig schwach rötlich-bräunliche Sporenfläche dar.

Die Messung der auf normalem Dextroseagar gebildeten Sporen ergab folgende Variationstabellen:

Länge μ	Individuenzahl
0,6	1
0,8	8
1,0	25
1,2	33
1,4	28
1,6	3
1,8	1
2,0	1

$M_l = 1,20\ \mu$

Breite μ	Individuenzahl
0,6	6
0,8	37
1,0	39
1,2	16
1,4	2

$M_b = 0,94\ \mu$

Das Verhältnis der Länge zur Breite, welches bei den Sporen von der normalen Agarkultur ohne Dextrosezusatz $\frac{M_l}{M_b} = \frac{1,87}{1,15} = 1,63$ betrug, ist hier auf $\frac{M_l}{M_b} = \frac{1,20}{0,94} = 1,30$ gefallen. Die Sporen sind hier nicht nur kleiner, sondern auch von mehr rundlicher Form. Das hängt mit der Gestalt der Sporangien zusammen. Diese sind auf dextrosefreiem Agar cylinderförmig, von 3—6 μ Länge und nur 0,8—1,4 μ Breite, während hier die Gestalt der Sporangien meist von unregelmäßiger rundlicher Form ist, in der Längsrichtung bis auf 2 μ und darunter zurückgeht, in der Querrichtung dagegen umgekehrt nicht selten auf 1,8—2 μ steigt.

5. Entwickelung auf natürlichen festen Substraten.

Auf Kartoffel. In einer mit Sporen geimpften Strichkultur sind nach 3—4 Stunden die Keimstäbchen schon ziemlich zahreich vertreten. Nach 5—6 Stunden sieht man meist zweigliedrige Ruhestäbchen, welche schon reichlich mit Fett versehen sind. Diese frühzeitige Fettspeicherung ist für die Kartoffelkulturen charakteristisch. Die Stelle der Bakterienvegetation hebt sich auf der glänzenden Kartoffelfläche als matter Fleck ab. Nach 24 Stunden wird die Bakterienschicht dicker und bekommt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den üblichen schwachgelben Farbenton, während die Kartoffel selbst sich dunkelgrau färbt. Die Vegetation besteht aus unverdickten, sich lebhaft teilenden, fettreichen Ruhestäbchen; Sporangien sind noch nicht vorhanden. Diese erscheinen erst im Laufe nächster 6—8 Stunden unter den etwas angeschwollenen fettreichen Einzelstäbchen, welche in diesem Stadium das Gros der Vegetation ausmachen. Parallel mit dem Ausreifen der Sporen geht auch hier die Bräunung der Bakterienwuchsfläche, zuerst im obersten wasserärmsten Teil des Klötzchens und von hier allmählich nach unten vorwärts. Die zur Entwickelung gelangte Bakterienfläche bleibt in ihrer Begrenzung konstant. Unter allmählichem Dunkelwerden reift sie im Laufe der folgenden 4—5 Tage langsam aus. Inzwischen erscheinen auf der primären dunkelbraunen Sporenfläche auch die gelb gefärbten Pünktchen und Ringe der sekundären Kolonieen; die Unterlage schwärzt sich immer mehr. Die Sporen gehören zu dem kleineren, mehr rundlichen Typus.

Auf Möhre erfolgt die Keimung ungefähr in derselben Zeit wie auf Kartoffel. Nach 5—6 Stunden sieht man 1—2-gliedrige Keimstäbchen, sämtlich noch ohne Fettkügelchen, viele mit den Sporenhäuten in Verbindung. Nach 14 Stunden ist ein schwacher durchsichtiger Belag erkennbar, der sich nach 24 Stunden zu einem weißlichen Häutchen entwickelt; es ist fadenziehend und besteht aus unverdickten fettarmen Stäbchen und Fäden. Nach weiteren 6—8 Stunden wird das Häutchen etwas faltig; es ist noch immer weiß, das Fadenziehen nicht mehr so stark. Die nicht verdickten Stäbchen weisen noch immer spärlich Fett auf. Weder geschwollene Formen, noch Sporangien sind vorhanden. Nach 48 Stunden ist das stark gefaltete, crême-farbig aussehende Häutchen nicht mehr fadenziehend; es breitet sich auf dem Möhrenstück immer mehr aus und besitzt einen buchtig gelappten Rand. Es treten die ersten Sporangien auf, einige von den Ruhestäbchen schwellen zu unregelmäßig konturierten Formen an. Im Laufe folgender Tage entwickelt sich das Häutchen immer mächtiger; es überzieht das Möhrenstück von allen Seiten her, stellenweise geht es auf die Glasfläche über und wächst an ihr fort; von den vielen Falten ganz runzelig geworden, ändert es jedoch seine Farbe nicht; mikroskopisch ist eine fortschreitende langsame Sporenbildung der immer weiter sich vermehrenden vegetativen Formen sichtbar.

Entwickelung sekundärer Kolonieen war auf Möhre während der 3—4-wöchentlichen Beobachtungszeit nicht zu sehen. Nach Größe und Form entsprechen die Sporen vollkommen denjenigen einer Kartoffelkultur.

6. Entwickelung in flüssigen Nährmedien, Produktion von Säure und Alkali, Diastasebildung etc.

In Flüssigkeiten geht die Entwickelung von Bac. luteus im allgemeinen viel langsamer als auf der Oberfläche eines festen Nährsubstrates vor sich.

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber den Unterschied zwischen lebender und lebloser Substanz.

Von **Hugo Fischer,** Berlin.

Zu dem Thema nochmals das Wort zu ergreifen, zwingt mich die Entgegnung Buchners[1]) auf meine letzten diesbezüglichen Ausführungen[2]).

Zuvor ist eine Bemerkung nötig: Von der Redaktion der Zeitschrift für physiologische Chemie war mir die Bedingung gestellt worden, meine schon äußerst knapp gehaltene Erwiderung noch auf etwa die Hälfte zusammenzustreichen. Bei solch übertriebener Kürze war es mir natürlich nicht möglich, allen Mißdeutungen vorzubeugen.

Wenn Buchner mich zu den „abfälligen Kritikern der Zymaseentdeckung“ zählt, so kann ich nichts weiter tun, als ihn bitten, im Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. p. 354. Z. 4–18 und in Lafars Handbuch der Technischen Mykologie, Bd. I. p. 259. Z. 24 ff., sowie die weiteren Ausführungen a. a. O., in denen die Zymase ohne Einschränkung als Enzym anerkannt ist, mit Aufmerksamkeit nachzulesen.

Eine „Abschwächung“ meiner Behauptungen habe ich bisher nicht für nötig befunden. Wenn man einen Ausdruck im übertragenen Sinne anwendet, ohne das besonders hinzuzufügen, und später, weil sich wider alles Erwarten Mißverständnisse ergeben haben, den übertragenen Sinn doch noch ausdrücklich betont, so ist das noch lange kein Rückzug.

„Mir ist vor allem darum zu tun, Klarheit zu schaffen und zweideutige Wendungen . . . . zu vermeiden“, schreibt Buchner a. a. O.[3]). Gewiß, das ist auch stets mein Bestreben gewesen; man darf dasselbe jedoch nicht übertreiben. Was gäben nicht Zoologen und Botaniker darum, wenn es gelänge, zwischen Tier und Pflanze, zwischen Art und Varietät, zwischen lebend und leblos, zwischen autotroph und heterotroph, zwischen vielen Tausenden anderer hochwichtiger Begriffe eine scharfe Grenze zu ziehen; es geht nicht, denn die scharfe Grenze ist widernatürlich. Solange man die geologischen Formationen gegeneinander scharf abgrenzte, herrschte die verfehlte Katastrophentheorie; erst die Erkenntnis, daß die Formationen nicht mit der vielleicht wünschenswerten Klarheit voneinander abgesetzt sind, vielmehr unmerklich ineinander übergehen, war der wichtige Schritt zur Wahrheit.

Als eines der zahllosen Beispiele für den Uebergang zwischen lebend und leblos erwähne ich die Chlorophyllkörner. Sie entstehen und vermehren sich wie ganze Zellen durch fortgesetzte Teilungen; trotzdem kann man darüber streiten, ob sie im engeren Sinne des Wortes als lebend zu bezeichnen sind, denn trotz eines recht komplizierten Baues dienen sie doch nur einem eng begrenzten Teil des Stoffwechsels. Erkennt man sie aber in einem schon etwas weiteren Sinne des Wortes

---

1) Buchner, E., Biochem. Zeitschr. Bd. IV. 1907. p. 230.
2) Fischer, H., Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLVI. 1906. p. 206.
3) Wie ernst es Buchner damit ist, darüber vergl. a. a. O. p. 222 oben. Dort wird erst von einer Vergärung der Disaccharide gesprochen, wo nur eine Spaltung mit nachfolgender Vergärung der Spaltprodukte gemeint sein kann, gleich darauf von einer Spaltung der Disaccharide, worunter nach dem Zusammenhang aber nur die alkoholische Gärung, die doch keine Spaltung ist, verstanden werden kann.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als lebend an, dann ist es unmöglich zu entscheiden, von welchem Augenblicke an sie eigentlich tot sind; zunächst büßen sie die Vermehrungsfähigkeit ein, im alternden Blatte sterben sie ab, aber ganz allmählich. Ferner die männlichen Samenfäden; nach Buchner wären sie auf der Höhe ihrer Wirksamkeit, da sie weder assimilieren noch sich vermehren, tote Gebilde, was selbstredend kein Physiologe der Welt zugeben wird. Ein herausgeschnittenes Froschherz, ein abgebrochener Eidechsenschwanz etc., in infinitum, gehen ganz allmählich vom Leben zum Tode über — wo bleibt da die „Klarheit“?

Weiterhin bemerkt Buchner: „Er setzt die frühere Diskussion fort, aber nicht etwa auf Grund neu gesammelter, eigener Erfahrung.“ Dagegen erwidere ich: Man kann der Wissenschaft auf zweierlei Weise dienen:

Erstens, indem man eigene Versuche und Beobachtungen anstellt;

zweitens, indem man (eigene oder fremde, neue oder alte bezw. uralte) Beobachtungen zusammenstellt und mittels der sogenannten Logik Schlüsse daraus zieht, und indem man so eigene oder fremde Irrtümer berichtigt[1]).

In der ersteren Richtung so recht ausgiebig nach Herzenslust seine wissenschaftlichen Gedanken und Pläne in die Tat umsetzen zu können, das muß wohl ein herrlich schöner Zustand sein; leider kennen viele die vielgepriesene Freiheit der wissenschaftlichen Forschung nur vom Hörensagen. Wenn sich aber auch meine diesbezüglichen Hoffnungen einmal verwirklichen, so würde ich doch Versuche, um Buchners biologische Anschauungen zu widerlegen, für sehr überflüssig halten, weil die bezüglichen Tatsachen längst klarliegen. Meine Erfahrungen in dieser Hinsicht erstrecken sich ziemlich ausschließlich auf die mikrotechnischen Fixierungsflüssigkeiten, als welche Alkohol, Sublimat-Alkohol, Alkohol-Chloroform-Eisessig, ferner Osmiumsäure, Chromsäure, Platinchlorid, Pikrinsäure, Formaldehyd u. a., teils allein, teils in Mischungen, in Frage kommen. Wenn ich a. a. O. so „leichtsinnig“ war, von „Alkohol oder dergl.“ zu schreiben, so bitte ich, die Erklärung für diese vielleicht mißverständliche Kürze in den ersten Zeilen vorliegenden Aufsatzes nachlesen zu wollen. Allerdings, daß jemand im Ernst behaupten könne, Alkohol wirke nur durch Auflösung von Cholesterin, Lecithin u. s. w. tödlich auf lebende Zellen — das hatte ich nicht vorausgesehen. Daß obengenannte Fixierungsmittel nicht durch Lösung (wie etwa freie Alkalien), sondern durch Ausfällung der wichtigsten, insbesondere der lebenden Zellbestandteile wirken, und daß ihre Wirkung die fast momentane Tötung alles Lebenden ist, darüber besteht überhaupt nur eine Meinung; und wäre irgend eine gegensätzliche Anschauung ausgesprochen worden, so wäre sie nicht ernst zu nehmen. Denn das ist ja die Absicht bei der Fixierung, die wesentlichen Zellinhaltsbestandteile in einen weniger löslichen, weniger veränderlichen Zustand überzuführen, und das so rasch als möglich, um Formveränderungen während des Absterbens tunlichst zu vermeiden.

Wenn der Alkohol, wie Buchner meint, lediglich durch Herauslösen von Cholesterin, Lecithin, Fett u. s. w. tödlich wirkte, dann stünden wir also vor der erstaunlichen, bisher ungeahnten Entdeckung, daß genannte Körper wesentliche Träger der Lebenstätigkeit wären! Es müßte ferner, wenn nicht praktisch durchführbar, doch mindestens

1) Weitere Möglichkeiten gehören nicht hierher.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

theoretisch denkbar sein, ein beliebiges Spirituspräparat von Tier oder Pflanze durch geeignete Zuführung von Cholesterin, Lecithin, Fett u. s. w. wieder ins Leben zurückzurufen. Selbst die theoretische Möglichkeit ist von aller Diskussion ausgeschlossen.

Wie wenig Buchner in physiologischen Grundfragen orientiert ist, beweist sein Satz: „Bei der einfachen Behandlung mit Alkohol wird jedenfalls nur ein kleiner Teil der Eiweißkörper chemisch verändert." Alle Physiologen stimmen darin überein, daß nur ein kleiner Teil der in jeder Zelle enthaltenen Eiweißkörper als Träger des Lebens anzusprechen, daß aber auch gerade dieser Teil gegen störende Eingriffe besonders empfindlich ist. Es genügt, diesen Teil zu vergiften, um die ganze Zelle zu töten.

Versuche mit Hefepreßsaft, wie Buchner sie anführt, können nichts beweisen, da die Lebensträger wohl zu den zähflüssigeren Stoffen gehören, die im filtrierten Preßsaft gar nicht enthalten sind oder aber schon beim Zerreiben durch „Selbstverdauung" vernichtet wurden.

Gerade der Alkohol soll nun aber dadurch tödlich wirken, daß er die Lipoidhäutchen, die nach Overtons Hypothese die verschiedenen einzelnen „Arbeitsstätten" im Protoplasma gegeneinander abgrenzen, zur Auflösung bringt. Dann würden also Teile des aktiven Zellinhaltes, die vorher voneinander getrennt waren, ineinander diffundieren und es würden dadurch Zersetzungserscheinungen an der lebenden Substanz bewirkt werden. Die logischen Folgen davon wären; erstens, daß die eigentliche Todesursache nun doch in der chemischen Veränderung bestünde (dazu gelangte ich direkt, Buchner auf einem Umwege); zweitens, daß der Tod nach Art einer Selbstverdauung, also entsprechend langsam, nicht, wie tatsächlich, momentan eintreten müßte; drittens die Forderung, daß besagte Selbstverdauung erst nach der Eintragung in absoluten Alkohol und in diesem sich vollziehen müßte, was nach allen Erfahrungen im allerhöchsten Grade unwahrscheinlich ist. Gerade der Alkohol, wie sonstige Fixierungs- und Konservierungsmittel, finden ja deshalb ihre Anwendung, weil sich die damit behandelten Objekte darin, wie auch nach späterer Uebertragung in Wasser nicht mehr weiter verändern, zum mindesten nicht in dem Sinne, wie es nach obigem der Fall sein müßte. Träte aber, wie Buchner (a. a. O. p. 233) bestimmt ausspricht, der Tod erst nach dem Uebertragen aus Alkohol in Wasser ein, dann stünden wir vor dem Paradoxon, daß ein vor 100 Jahren in Alkohol konserviertes Tier noch heute als lebend anzusehen wäre.

Die (übrigens durch die Theorie der flüssigen Kristalle[1]) kaum berührte) Frage nach dem Aggregatzustand der lebenden Substanz ist doch so unwesentlich nicht, wie Buchner meint. Hier scheiden sich zwei Weltanschauungen. Bei fester Beschaffenheit wäre der Stoffwechsel, wie jede Lebenstätigkeit überhaupt, nur vorstellbar nach Art eines kunstvoll voraus berechneten Räderwerkes; aber fester Zustand und Räderwerk sind nichts als Fiktion, der $\pm$ flüssige Zustand ist mit Augen zu sehende Tatsache.

Gegenüber den Gemengen, die Buchner immer wieder betont, möchte ich hervorheben, daß mir eine primitive Zelle, in der eine Gruppe von gleichartigen Eiweißmolekeln unter sonst indifferenten, für den

1) Diese sind auch für Biologen höchst interessant, ihr Sein oder Nichtsein ändert aber nichts an den obigen Tatsachen.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stoffwechsel aber notwendigen Substanzen der einzige Lebensträger wäre, keineswegs unvorstellbar erscheint.

Da ich im übrigen mit Genugtuung feststellen kann, daß Buchner in wesentlichen Punkten sich meiner Auffassung bedeutend genähert hat, so verlasse ich hiermit die Polemik und möchte ein paar Bemerkungen über den Tod, speziell die akute Vergiftung der Zelle, wie die erwähnten Fixagen sie bewirken, anfügen.

Während der natürliche Tod der Gewebe höherer Tiere und Pflanzen wohl allgemein auf mangelnde Regeneration infolge von ausbleibender Ernährung zurückzuführen ist, wohl oft in Verbindung mit einer Art von Selbstverdauung des gegen seine eigenen Enzyme nicht mehr widerstandsfähigen Protoplasmas, ist, wie allgemein anerkannt, das Absterben in einem jener Fixierungsmittel stets durch Ausfällung der Eiweißkörper herbeigeführt; worauf schon die Natur jener chemischen Agentien hinweist. Der Unterschied zwischen fixiertem und lebendem Material deutet darauf hin, daß diese Ausfällung wesentlich mit auf Wasserentziehung beruhe. Freilich ist es die Wasserentziehung nicht allein, denn Wasserzufuhr zu dem Objekt, nach Herauswaschen der Fixage, stellt den früheren Zustand nicht wieder her, geschweige denn, daß das Leben damit zurückkehrte. Das fixierte Eiweiß ist nicht im stande, das einmal abgespaltene Wasser in der früheren Form wieder aufzunehmen. Das gilt übrigens auch, wenngleich nicht in demselben Maße, von durch Austrocknung getöteten Organismen, deren nur bestimmte, und diese meist nur in besonderen Dauerzuständen, völlige Trockenheit überleben können. Der Umstand aber, daß es überhaupt Tier- und Pflanzenzellen gibt, die die letztere Tätigkeit besitzen, beweist uns, daß die Wasserverdunstung an der Luft und die Wasserabspaltung unter Fixationsmitteln nicht von gleicher Art sind. Nach Absterben infolge von Austrocknung kehrt auf Wasserzufuhr wenigstens physikalisch der frühere Zustand zurück, am fixierten Material nicht.

Die durch die Fixage hervorgerufene Veränderung äußert sich im wesentlichen darin, daß die Substanz, innerhalb und unbeschadet ihrer kolloidalen Natur, sich mehr dem festen Aggregatzustand genähert hat. War sie vorher tropfbar- bis zähflüssig, so ist sie jetzt als weich-fest zu bezeichnen; sie ist nicht von kristallinischer Starrheit, aber auch nicht mehr im stande, wie selbst die zäheste Flüssigkeit ihre Form zu verändern — eine Fixage, die letzteres noch zuließe, wäre eben keine Fixage. Das fixierte Eiweiß von Plasma, Nucleus u. s. w. ist noch quellungs- und schrumpfungsfähig, aber bei weitem nicht mehr in dem Maße, wie frisches oder nur durch Trocknen getötetes Material. Diese relative Aenderung des Aggregatzustandes ist das eine Argument, das uns auf die Wasserentziehung als wesentlich für die Giftwirkung genannter Agentien hinweist.

Ein zweiter Beweisgrund liegt im folgenden: Nur kunstgerecht fixiertes Material ist zur Paraffineinbettung geeignet. Es wäre vergebene Mühe, durch Trocknen entwässertes Material richtig einbetten, d. h. aufs feinste mit Paraffin durchtränken zu wollen; man kann es höchstens einschmelzen, d. h. ringsum in Paraffin einhüllen. Andererseits sind solche Dinge, wie sklerenchymatische Zellwände, Stärkekörner u. dgl., obwohl hervorragend quellbar, doch jeglicher Fixation und Paraffindurchtränkung im obigen Sinne unzugänglich, sind also von den Eiweißkörpern der lebenden Zelle in diesem Punkte wesentlich verschieden. Die Durchtränkung mit Paraffin setzt eine gewisse Porosität voraus,

Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

die aber den kolloidalen Substanzen nicht als solchen zu eigen sein kann, sonst müßten sich auch Amylumkörner und Holzzellen durchtränken lassen [1]). Wir gelangen somit zu der wahrscheinlichen Annahme, es werde in jenen Eiweißkörpern durch die Fixation ein poröser Bau erst hervorgerufen, der dann, nach völliger Entwässerung, die korrekte „Einbettung" ermöglicht. Zu erklären wäre diese Porosität so, daß das Fixationsmittel den Eiweiß-etc.-Molekeln Wasser abspaltet, wobei sie schrumpfen, aber eine jede für sich, so daß der Körper seinen Umriß behält, im Inneren aber von einem System anastomosierender Kanälchen durchzogen wird, während die Teilchen einen Zusammenhang bewahren (man denke etwa an ein System regelmäßig und lückenlos übereinander geschichteter Würfel, die sich unter Volumverminderung zu Kugeln abrunden, dabei aber in je einem Punkte miteinander in Berührung bleiben).

Diese Wasserentziehung muß aber eigener Art sein, denn die einmal fixierte Substanz nimmt Wasser nicht wieder in der früheren Form auf; die Fixation bedingt gleichzeitig eine chemische Veränderung an der lebenden Substanz, die sich als Ausfällung charakterisiert, die im übrigen ihrem Wesen nach noch unbekannt, jedenfalls aber nach aller unserer Kenntnis nicht reversibel ist.

So viel ist gewiß: eine einmal fixierte Zelle ist unwiderruflich tot, und der Tod ist durch das Fixierungsmittel verursacht. Da wäre es höchst sonderbar, wenn das Absterben der Zelle und die chemische Wirkung jener Agentien nicht in direktem ursächlichen Zusammenhang stünde.

Nun sind aber jene stark wirkenden Gifte in der Regel auch Gifte für Enzyme; es bestehen hier Unterschiede, aber diese sind relativ (im allgemeinen ist lebendes Protoplasma empfindlicher gegen Giftwirkung). Wo aber eine gleiche Ursache (Gift) eine gleiche Wirkung (Tod des Protoplasmas bezw. irreversibles Unwirksamwerden eines Enzyms) zur Folge hat, da muß doch den beiderlei Objekten, an denen die Wirkung sich äußert, eine sehr wesentliche Eigenschaft gemeinsam sein.

Gleiches zu Gleichem gibt Gleiches,
Gleiches zu Ungleichem gibt Ungleiches.

Und dieses Gemeinsame hängt aufs engste mit Leben und Sterben zusammen.

Zum Schluß noch ein Hinweis darauf, wie wenig wir gerade im Hinblick auf das Fortschreiten der Wissenschaft im stande sind, für das, was eigentlich das Wesen des Lebens ausmacht, zwar keine Erklärung, aber doch wenigstens eine klare und bindende Definition zu geben: Allgemein galt die Synthese höherer Eiweißkörper als ausschließliches Merkmal (nicht aber allgemein, vergl. unten, als allererstes Charakteristikum) lebender Substanz; seit Emil Fischers bezüglichen Entdeckungen ist auch diese Schranke gefallen, jene Synthese ein „rein chemischer" Vorgang. „Assimilation und Vermehrung" hatte noch Buchner in seinen gegen mich gerichteten Ausführungen in allererster Linie als „Kennzeichnung des Lebens" hingestellt! Wir wissen tatsächlich kaum noch, angesichts der weit entwickelten Enzymforschung, welche chemisch-physiologischen Vorgänge wir eigentlich noch der im engerem Sinne lebenden Substanz zuschreiben sollen, als etwa — die Produktion von Enzymen; und auch diese wird man vielleicht in absehbarer Zeit künstlich herstellen.

1) Von dem verfehlten Gedanken, daß Porosität die Ursache der Quellung sein könnte, ist man nun wohl endgültig abgekommen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Erdbeergeruch erzeugenden Bakterien.

Pseudomonas fragaroidea nov. spec.[1])

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. Dr. Weigmann.]

Von **Harald Huss**,

Botaniker am Gesundheitsamt, Stockholm.

Bei der bakteriologischen Untersuchung einer sogenannten „bakterienfreien“ Butyratorbutter, die, nebenbei bemerkt, verhältnismäßig reich an Mikroorganismen war, wurde in einer der angelegten Gelatineplattenkulturen ein intensiver Erdbeergeruch wahrgenommen. Da der Geruch sich in der Nähe einiger den Nährboden verflüssigenden Kolonieen am stärksten zeigte, nahm ich an, daß diese das schöne Aroma erzeugten. Es wurde deshalb eine von diesen Kolonieen als Ausgangsmaterial für neue Gelatineplattenkulturen benutzt. Die Vermutung erwies sich als richtig; schon 24 Stunden nach der Herstellung der Kulturen konnte in der Schale erster Verdünnung ein kräftiges Erdbeeraroma konstatiert werden. Die Gelatine dieser Platte war bereits flüssig. Nach der Reinzüchtung der Bakterie wurden die üblichen Kulturen zwecks Identifizierung angelegt. Es stellte sich dann beim Vergleich der biologischen Eigenschaften dieser Bakterie mit den der bis dato bekannten „Erdbeerbakterien“ heraus, daß eine neue Art hier vorlag.

Die Zahl der beschriebenen, Erdbeeraroma produzierenden Bakterien ist nicht groß; sie beträgt meines Wissens nur drei. Alle drei gehören der Gattung Pseudomonas an, sind also bewegliche, polar begeißelte Stäbchen. In dieser Zahl sind nicht solche Bakterien inbegriffen, die eventuell in Milchkulturen nach längerer Zeit ein an Erdbeeren erinnerndes Aroma bilden. Charakteristisch für alle mit dem Epitheton „Erdbeerbakterien“ belegten Bakterien ist das Auftreten des Erdbeergeruches in den jungen Kulturen derselben. Das Aroma der Kulturen ist bei der einen Art beständiger als bei der anderen; die Zusammensetzung des Nährsubstrates ist auch von Einfluß auf die Dauerhaftigkeit des Aromas einer Kultur. Andererseits ist die Fähigkeit, „Erdbeerester“ zu produzieren, bei allen Arten eine mehr oder weniger labile. Wie viele andere sogenannte Aromabakterien verlieren mitunter die Erdbeerbakterien auch nach längerer Züchtung auf künstlichen Nährböden ihre aromabildenden Eigenschaften, die man aber dadurch wieder für eine Zeit aufwecken kann, daß die betreffende Bakterie in einem ihren natürlichen Lebensbedingungen mehr entsprechenden Substrat kultiviert wird.

Die in der bakteriologischen Literatur bis jetzt näher behandelten Erdbeerbakterien sind:

Pseudomonas (Bacterium) Fragi Eichholz
„ Fragariae I Gruber
„ Fragariae II „

Um den Vergleich zwischen diesen und der von mir im folgenden beschriebenen Erbeerbakterie zu erleichtern, gebe ich zuerst eine kurze

1) Die vorliegende Arbeit wurde während meiner Assistentenzeit in Kiel ausgeführt.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung der Hauptmerkmale der von Eichholz und Gruber isolierten Mikroben.

In einer „Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter“ betitelten Arbeit bespricht Reinmann[1]) eine Coli-ähnliche Bakterie, welche die Fähigkeit besitzt, in Butter ein angenehmes Erdbeeraroma hervorzurufen; der Mikroorganismus ist aber von ihm nicht näher beschrieben worden.

Die ersten eingehenderen Untersuchungen über die zu der betreffenden Gruppe gehörenden Bakterien wurden von Eichholz und Gruber ungefähr gleichzeitig ausgeführt. Eichholz[2]), welcher seine Bakterie gelegentlich einer Arbeit entdeckte, die das Studium der bei verschiedenen Temperaturen in Milch zur Entwickelung kommenden Bakterienarten zum Gegenstand hatte, nennt dieselbe Bacterium Fragi. Da die Bakterie durch polare Begeißelung ausgezeichnet ist, hat Gruber ihr später in einer weiter unten zu besprechenden Arbeit, der Migulaschen Nomenklatur folgend, den Namen Pseudomonas gegeben und ihr damit den richtigen Platz im System angewiesen.

Pseudomonas Fragi ist durch folgende morphologische und physiologische Hauptmerkmale charakterisiert: 1) Bewegliches, polar begeißeltes Kurzstäbchen; Sporenbildung wurde nicht beobachtet. 2) Temperaturoptimum für das Wachstum liegt bei 26—29° C. Bei 37° C sistiert das Wachstum. 3) Milchzucker-Gelatineplatten: Schöne, rosettenförmige, gänseblümchenähnliche Oberflächenkolonieen. 4) Agarstrichkulturen: Farbloser, leicht abnehmbarer, fast ganz glatter Strich. Junge Kulturen riechen nach Erdbeeren, nach einigen Tagen tritt Trimethylamingeruch auf. 5) Gelatinestich: Flache Nagelkultur; keine Verflüssigung des Substrats. Der Erdbeergeruch erhält sich über 25 Tage hinaus völlig rein. 6) Bouillon: Trübung und Bildung eines flockigen Bodensatzes und späterhin einer Kahmhaut, die bei geringer Berührung zu Boden fällt und sich bald erneuert. Der Erdbeergeruch bleibt über 20 Tage hinaus erhalten. 7) Kartoffel: Grauweißer, stumpfer oder glänzender Belag, welcher später braun und glanzlos wird. 8) Milch: keine sichtbare Veränderung. Nach 3 Tagen nimmt die Milch einen eigentümlichen Fäulnisgeruch an; der Geschmack ist faulig, entfernt an Erdbeeren erinnernd. Reaktion stark alkalisch.

In einer 1½ Monate später publizierten Studie beschreibt Gruber[3]) eine andere, der Gattung Pseudomonas angehörende Bakterie, Pseudomonas Fragariae, welcher insofern dieselben physiologischen Eigenschaften wie Pseudomonas Fragi zukommt, als sie auch in allen Kulturen einen mehr oder weniger ausgeprägten Erdbeergeruch erzeugt. Nach Gruber besitzt die Bakterie, die er auf einer Steckrübe fand, folgende Merkmale: 1) Bewegliches Kurzstäbchen, das 1—9 polar inserierte Geißeln aufweist. Sporulation war in keinem Nährboden zu erzielen. 2) Temperaturoptimum für Wachstum nicht angegeben. Die von Gruber ausgeführten Kulturen sind sämtlich bei 18—22° C gezüchtet worden. 3) Bildung von Bakteriofluorescin. 4) Keine Bildung proteolytischer Enzyme. 5) Gelatineplatten: Die Oberflächenkolo-

1) Reinmann, R., Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900.)

2) Eichholz, W., Erdbeerbacillus (Bacterium Fragi). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902.)

3) Gruber, Th., Pseudomonas Fragariae. Eine Erdbeergeruch erzeugende Bakterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nieen sind glänzend, wassertropfenähnlich, im durchfallenden Licht bläulich schimmernd. 6) 3-proz. Milchzucker-Gelatinetupfkolonieen: Runde, konzentrisch geschichtete, flache, am Rande schleierartige, grünlich schimmernde Beläge. Während der Rand einer 2-tägigen Tupfkolonie hell und durchsichtig ist und sich allmählich im Substrat verliert, ist derselbe am 3. Tage von einer Zone umgeben, die aus feinen weißen „Spritzern" besteht. 7) 3-proz. Milchzucker-Gelatinestrich: Grauweißer, grünlich schimmernder, glänzender Belagstreifen, von dessen Rändern feine Ausläufer, die nach der Spitze des Striches zu gerichtet sind, ausgehen, so daß die ganze Kultur einer Gänsefeder gleicht. 8) Gelatinestich: Im Kanal findet kein Wachstum statt. Auflagerung grauweiß, gallertartig aussehend, durchsichtig, dünn, glänzend. Die Gelatine fluoresziert schön hellgrün. 9) 3-proz. Milchzucker-Agartupfkolonieen: Der ganzen Gestalt nach rundliche bis ovale, mehr oder minder tief eingeschnittene, strahlenförmige Kolonieen mit breiten Lamellen. 10) Agarstich: Weißlicher, glänzender Oberflächenbelag. Kein Wachstum im Kanal. 11) Agarstrich: Weißer, etwas schleimig aussehender, wässerig-breiiger Belagstreifen. 12) Kartoffel: Zuerst weißer, breiiger, wässeriger, später gelblicher bis gelblichbrauner, glänzender, vaselinartig weicher Belag. 14-tägige Kulturen sind bräunlich. 13) Bouillon: Starke Trübung. Die Oberfläche ist von einer grauweißen Haut bedeckt, die am 3. Tage zusammenhängend und schwer zu verteilen ist. Schleimiges, fadenziehendes Sediment. Reaktion stark alkalisch. 14) Magermilch: Am 6. Tage besitzt die Milch einen eigenartigen Geruch, der spezifische Geruch der Ausdünstung einer Kuh, wie ihn die frische, ungekochte Milch zeigt; der Geschmack ist pikant, etwas bitter. Reaktion schwach alkalisch. Nach Ablauf von 4 Wochen ist die Milch schwach bräunlich. Die Reaktion ist jetzt etwas stärker alkalisch. Der Geruch nach Kühen sehr konzentriert; das weinartige, ammoniakalische Aroma kommt aber nicht zum Ausdruck.

Die dritte der bis jetzt studierten Erdbeerbakterien ist auch von Gruber[1]) und zwar aus Milch isoliert worden. Der Forscher hat der Bakterie den Namen Pseudomonas Fragariae II gegeben, eine Bezeichnung, die nicht ganz geeignet ist, und die wohl bei der Einreihung der Bakterie in das System einer anderen „Nummer" weichen muß. In seiner Studie dieser Bakterie beschreibt Gruber sie in folgender Weise: 1) Bewegliches Stäbchen, welches eine, selten zwei polar lokalisierte Geißeln besitzt. 2) Temperaturoptimum für das Wachstum: Etwa 18—22° C. Bei 32—34° C sistiert das Wachstum. 3) Bildung proteolytischer Enzyme. 4) Keine Bildung fluoreszierender Farbstoffe. 5) Gelatineplatte: Runde, gewölbte, schmutzig weiße, glänzende, im durchfallenden Lichte bläuliche, etwas trockenbreiige Oberflächenkolonieen. 6) Gelatinetupfkolonieen: Nach 10 Tagen bis 1 cm im Diameter fassende, runde, schalenförmige Verflüssigungen, die konzentrische Schichtung aufweisen. Ein deutlicher Erdbeergeruch wird auch am 10. Tage wahrgenommen; erst später kommt der ammoniakalische mehr zur Geltung. 7) Gelatinestrich: Rinnenförmige Verflüssigung längs des Impfstriches nach 24 Stunden. 8) Gelatinestich: Im Kanal findet selbst nach 5 Wochen kein Wachstum statt. Oberflächenbelag grauweiß, glänzend, breiig; eine Verflüssigung des Nährbodens konnte

1) Gruber, Th., Ein weiterer Beitrag zur Aromabildung, speziell zur Bildung des Erdbeergeruches in der Gruppe „Pseudomonas". Pseudomonas Fragariae. II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hier nicht konstatiert werden. Das Erdbeeraroma bleibt lange erhalten. 9) Agartupfkolonieen: Runde, erhabene, konzentrisch geschichtete, radiär gestreifte, grauweiße, glänzende Beläge. 10) Agarplatten: Nach 8 Tagen bis 8 mm große, runde, grauweiße, konzentrisch geschichtete Oberflächenkolonieen, welche beim Neigen der Kulturschale eine schmale, konzentrische Zone erkennen lassen, die meistens am Rande silberweiß ist. Erdbeergeruch noch vorhanden. 11) Milch: Nach 7 Tagen tritt sämige Gerinnung ein. Reaktion sauer. Geruch aromatisch. Später setzt sich das Kasein ab, die Reaktion wird stark sauer. 12) Bouillon: Starke Trübung; an der Flüssigkeitsoberfläche wachsen Häutchen heran, die Wolkenbildungen gleichen. Dieselben fallen bei der leisesten Berührung zu Boden. Deutlicher Erdbeergeruch vorhanden. 13) Kartoffel: Breiter, dicker, schleimig aussehender, schmutzig bräunlicher, wässerig-breiiger Belagstreifen. Die Kultur besitzt einen intensiven Geruch nach Punschtorte. Aeltere Belagstreifen sind fleischfarbig.

Ich gehe jetzt zur Beschreibung der von mir isolierten Erdbeeraroma erzeugenden Bakterie über:

Morphologisches.

Die Bakterie ist ein, je nach den Kulturbedingungen kürzeres oder längeres Stäbchen, dessen Enden meistens abgerundet sind. So sind die Individuen einer 24-stündigen, bei 20° C gezüchteten Agarstrichkultur gewöhnlich recht kurz, während diejenigen einer gleichaltrigen Agarkultur, welche bei 37° C gehalten wird, zum größten Teil eine ausgesprochen langgestreckte Gestalt aufweisen. Die Größenmaße für die erstern sind: 1,05—1,7 μ lang und etwa 0,6 μ breit, für die letzteren: bis zu 4,5 μ lang bei einer Breite von etwa 0,6 μ. Viele von diesen langen Zellen erreichen aber mitunter einen Durchmesser von etwa 1 μ. Betreffs die Bildung von mehrzelligen Verbänden verweise ich auf die Besprechung der resp. Kulturen. Längeres Verweilen der Bakterie bei 37° C bringt wenigstens in 8 Tagen keine morphologischen Veränderungen mit sich. Eine 8-tägige Agarstrichkultur zeigte nämlich dieselbe Zusammensetzung wie eine junge Kultur auf demselben Nährboden.

Die Individuen der Kartoffelkulturen sind, so lange sie bei 20° C wachsen, kurze, 0,7—1,05 μ lange und 0,6—0,75 μ breite Stäbchen, deren Enden schön abgerundet erscheinen. Werden die Kartoffelkulturen dagegen bei 37° C gezüchtet, treten große Veränderungen in der Gestalt der Zellen auf. So setzte sich z. B. ein 4 Tage alter Strich aus Individuen zusammen, die meistens sehr langgestreckt waren. Man beobachtete in solchen Kulturen sehr viele unsegmentierte, fadenförmige Individuen, die bis zu 80 μ lang sind. Ihre Breite beträgt sehr häufig etwa 1 μ. Die Enden dieser auf Kartoffeln gewachsenen Zellen sind oft deutlich zugespitzt. Der Protoplast hat in mit Karbolfuchsin gefärbten Präparaten ein körniges Aussehen.

Die Bakterie ist lebhaft beweglich und besitzt, wie der Gattungsname sagt, polar lokalisierte Geißeln. Die Zahl der letzteren variiert von einer bis mehreren. In einem mit 24-stündiger (20° C) Agarstrichkultur geimpften, hängenden Tropfen ist die Bewegung der Bakterie äußerst lebhaft. Die Stäbchen eilen hin und her ohne Aufenthalt. Das Ganze gleicht dem Hin- und Hertanzen eines Mückenschwarmes.

Sporenbildung wurde in keiner einzigen Kultur beobachtet.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Färbbarkeit.

Sowohl mit Karbolfuchsin wie nach der Gramschen Methode läßt sich die Pseudomonas fragaroidea kräftig färben.

Sauerstoffbedürfnis.

Pseudomonas Fragariae I und II zeigen nach Gruber kein Wachstum im Stichkanal einer Agarstichkultur. Pseudomonas Fragi Eichholz unterscheidet sich von den zuerst genannten dadurch, daß sie ein schwaches Wachstum im Kanal der Stichkultur aufweist. Was die Pseudomonas fragaroidea angeht, konnte ich nur im obersten Teil des Stiches ein Wachstum wahrnehmen. Es war also anzunehmen, daß Ps. fragaroidea unter O-Abschluß nicht gedeihen würde. Die im Folgenden beschriebenen anaëroben Kulturversuche bestätigen aber die Richtigkeit dieser Annahme nicht, denn, wie aus diesen Versuchen erhellt, konnte sowohl in H-, wie in N-Atmosphäre Wachstum der Kulturen konstatiert werden.

Einfluß verschiedener Wärmegrade auf die Wachstumsgeschwindigkeit.

Aus den vorhin referierten Arbeiten von Eichholz und Gruber geht hervor, daß die Erdbeergeruch erzeugenden Pseudomonas-Arten relativ niedrige Temperaturen lieben. Für die Aromabildung ist auch die gewöhnliche Zimmertemperatur oder noch niedrigere Wärmegrade unzweifelhaft die geeignetsten. Bezüglich des Einflusses der verschiedenen Temperaturen auf die Wachstumsintensität der Bakterien besagen die Studien von Eichholz und Gruber, daß alle 3 Arten bei 20° C sehr gut gedeihen, daß aber dagegen das Wachstum von Pseudomonas Fragi und Pseudomonas Fragariae II bei etwa 34° C sistiert. Für die Pseudomonas Fragariae I gibt die Arbeit von Gruber nicht darüber Aufschluß, wie es sich mit dem Wachstum dieser Bakterie bei höheren Temperaturen verhält. Bei einer vergleichenden Nachprüfung dieser Verhältnisse konstatierte ich, daß Pseudomonas Fragariae I auch bei 37° relativ gut gedeiht, während die beiden anderen Arten nicht zur Entwickelung kamen.

Was jetzt die Pseudomonas fragaroidea betrifft, verhält sie sich gegenüber höheren Wärmegraden ungefähr wie Pseudomonas Fragariae I. Um den Einfluß der verschiedenen Temperaturen auf die Wachstumsgeschwindigkeit meiner Bakterie festzustellen, bediente ich mich der Agarstrichkulturen.

Das Ergebnis dieser Versuche war das folgende:

Bei 42° C	kaum sichtbares Wachstum
„ 38° C	gutes Wachstum, aber sehr dünn und ausgebreitet
„ 35° C	etwas besseres Wachstum als bei 38° C
„ 34° C	
„ 33° C	
„ 29° C	sehr kräftiges Wachstum
„ 20° C	

Bei 14—15° C: Gutes Wachstum; Entwickelung des Belages ungefähr ebenso kräftig wie bei 33—35° C.

Kürzeres Verweilen der Bakterie scheint ohne schädigenden Einfluß auf die physiologischen Eigenschaften derselben zu sein. So erzeugte z. B. eine 48 Stunden bei 42° C gehaltene Agarkultur in Gelatine schon nach 24 Stunden einen schönen Erdbeergeruch. Die stark verflüssigenden

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eigenschaften machten sich auch bemerkbar, indem nach dieser Zeit die Gelatineplatte vollständig flüssig war.

Die für das Wachstum der Pseudomonas fragaroidea günstigste Temperatur liegt also zwischen 20 und 29° C. Der Bequemlichkeit halber sind die im Folgenden beschriebenen Kulturen bei 20° bezw. 37° C gezüchtet worden.

Ansprüche an die Zusammensetzung des Nährbodens.

Auf das Wachstum ist die Reaktion des Nährsubstrates ohne Einfluß. Die Pseudomonas fragaroidea gedeiht gleich gut auf sauren wie auf alkalischen Nährböden. Es zeigte sich auch kein Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit derselben, wenn ihr kohlenhydratreiche oder an Kohlenhydraten arme Nährstoffe geboten wurden. Betreffend den Einfluß der Zusammensetzung der Nährsubstrate auf die physiologischen Eigenschaften der Bakterie wird auf die verschiedenen im Folgenden behandelten Kulturen hingewiesen.

Kulturelle Merkmale.

Die in der vorliegenden Arbeit benutzten Nährsubstrate waren von derselben Zusammensetzung wie die von mir bei der Untersuchung von Bacillus esterificans Maasen und Pseudomonas Trifolii gebrauchten Nährböden [1]).

Gelatineplatte. Temp. 20° C.

A. Natürliche Größe.

1) Oberflächenkolonieen: Nach 24 Stunden kaum sichtbare, lichtbrechende, gelblich schimmernde Pünktchen. 48 Stunden alte Oberflächenkolonieen sind etwa 1 mm im Diameter und bestehen aus kreisrunden, uhrglasförmigen Verflüssigungsschalen, die scharf von der festen Gelatine getrennt sind. Die Peripherie und das Zentrum derselben sind weißlich grau, der übrige Teil der flüssigen Gelatine homogen grau. In den folgenden Tagen verläuft die Entwickelung der Kolonieen in der gleichen Weise wie die der später beschriebenen Gelatinetupfkolonieen.

2) Tiefenkolonieen: Den 48 Stunden alten Tiefenkolonieen begegnen wir als sehr kleinen, kreisrunden, grauen Scheiben, die beim durchfallenden Lichte ein weißes Zentrum und einen ebenso gefärbten Rand aufweisen. Die Kolonieen sind durchscheinend.

B. Bei 130-facher Vergrößerung.

1) Oberflächenkolonieen: Die 24-stündigen Beläge sind von rundlicher Form, glattrandig, gelblich gefärbt und im Zentrum lichtbrechend. Das Innere derselben ist körnig, der Rand schimmert schwärzlich, infolge anfänglicher Verflüssigung der Gelatine.

48 Stunden alte Kolonieen besitzen ein grobkörniges Zentrum aus dichterer, bräunlicher Bakterienmasse, die am Rande zerrissen erscheint. In der diese zentrale Scheibe umgebenden flüssigen Gelatine ist die übrige Bakterienmasse ziemlich homogen verteilt.

2) Tiefenkolonieen: Die 24-stündigen Tiefenkolonieen sind ganz kreisrunde, schwach gelbliche, glattrandige, fein punktierte Scheiben, die nach weiteren 24 Stunden ein bräunlichgelbes Zentrum bekommen haben.

1) Huss, H., Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien. Bacillus esterificans M. und Pseudomonas Trifolii n. sp. (C. f. B. Abt. II. Bd. XIX. 1907.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die äußere Zone dieser zweitägigen Kolonien erscheint grau und geht allmählich in die farblose Peripherie über.

Bezüglich der Aromabildung auf den Gelatineplatten ist folgendes zu bemerken. Dichtbesäte Platten werden in der Regel schon innerhalb 24 Stunden vollständig verflüssigt. Die flüssige Kultur ist durch einen sehr schönen, kräftigen Geruch nach Erdbeeren ausgezeichnet. Faule oder ammoniakalische Nebengerüche werden in diesen jungen Kulturen nicht wahrgenommen. Nach 48 Stunden (also zweitägige Platten!) merkt man neben dem Erdbeeraroma einen ganz deutlichen Geruch nach Roquefortkäse. Die 3-tägigen Kulturen lassen schon einen ganz schwachen Geruch nach Ammoniak neben den beiden vorhin erwähnten Aromata erkennen. Der Erdbeergeruch ist aber auf diesem Stadium immerhin der am meisten hervortretende Anteil des Aromas. Am 6. Tage merkt man von Wohlgerüchen nur wenig, indem der Erdbeergeruch nur sehr gering zum Ausdrucke kommt. Anstatt dessen hat der Ammoniakgeruch bedeutend zugenommen und ist noch von einem schwachen fauligen Geruch begleitet. 12 Tage alte Kulturen riechen stark nach Ammoniak. (Vergl. hierzu die in Reagenzgläsern wachsenden Gelatine-, Agar- und Milchkulturen, welche ihren Erdbeergeruch viel länger und reiner behalten als die Gelatineplatten oder Plattenkulturen überhaupt!)

Gelatine-Tupfkulturen. Temperatur 20° C.

Wird die Oberfläche einer erstarrten Gelatineschicht mit einem stecknadelkopfgroßen Tropfen flüssiger Gelatinekultur betupft, erscheint nach 24 Stunden eine etwa 7 mm im Durchmesser fassende, kreisrunde, tief uhrglasförmige, von dem festen Substrat scharf getrennte Verflüssigungsschale an der betupften Stelle. Die Schale ist mit getrübter, flüssiger Gelatine gefüllt. In dieser hat sich die Bakterienmasse in zierlichster Weise folgendermaßen angeordnet: Das Zentrum der Schale wird von einer dichten, graugelben Ansammlung eingenommen, die am Boden lagert und einen fein zerschlitzten Rand besitzt. Von der Peripherie der Schale ziehen in zentripetaler Richtung feine grauweiße Strahlen, die dem Boden folgend, im Zentrum der Kolonie endigen. In der obersten Schicht der flüssigen Gelatine schwimmt eine schleierartig dünne, graue, am deutlichsten von der Seite sichtbare, hautähnliche Ansammlung von Bakterien, ganz wie in den Gelatinestichkulturen. Die ganze Tupfkolonie erinnert zu dieser Zeit an der mit Radialkanälen versehenen Glocke einer Hydromeduse, von unten gesehen. Das hier beschriebene Aussehen einer etwa 24 Stunden alten Tupfkolonie ist sehr charakteristisch. Ich habe die Kulturen mehrmals wiederholt und immer diese schöne, zierliche Anordnung der Bakterienmasse in dem flüssigen Nährboden beobachten können. In 48-stündigen Kolonieen ist diese charakteristischen Gruppierung der Bakterien verschwunden. Die in diesem Alter etwa 1 cm im Diameter messenden Verflüssigungsschalen sind mit dünnflüssiger Gelatine gefüllt, in welcher allerdings der Hauptanteil der Bakterienmasse das Zentrum einnimmt, die aber der radiären Anordnung im äußeren Teil entbehrt. Hier hat sich ein in den Umrissen verschwommener kreisförmiger Ring von grauer Farbe gebildet. Am fünften Tage, wo die Tupfkolonieen 3,5—4 cm Durchmesser haben, zeigen dieselben nichts Charakteristisches mehr. Im Zentrum lagert gelblichgraue Bakterienmasse, die allmählich in den äußeren, homogen grauen Teil der verflüssigten Gelatine übergeht.

Gelatinestrich. Temperatur 20° C.

Die Intensität der proteolytischen Eigenschaften der Bakterie tritt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hier sehr deutlich hervor. Schon nach 6 Stunden ist eine tiefe Rinne im Substrat entstanden. 30 Stunden nach dem Impfen der Gelatine erreicht die Verflüssigung die Glaswand des Kulturgefäßes.

Gelatinestich. Temperatur 20° C.

Die Entwickelung einer Gelatinestichkultur ist die folgende:

Nach 24 Stunden: Eine etwa 2 mm im Durchmesser fassende Verflüssigungsschale entstanden, die mehr oder weniger ausgesprochen trichterförmig allmählich in den unteren fadenförmigen Teil des Stichkanals übergeht. Die verflüssigte Gelatine ist leicht getrübt. Am Boden des Trichters hat sich eine Wolke von weißlicher Bakterienmasse gehäuft.

Nach 48 Stunden: An der Oberfläche der Gelatinesäule hat die Verflüssigung jetzt die Wand des Reaganzglases erreicht. Die Verflüssigung schreitet von jetzt ab längs der Kulturglaswand hauptsächlich cylindrisch fort. Im Stichkanal ist die an der Basis trichterförmige Verflüssigungszone bis zur halben Tiefe des Nährbodens sichtbar; im untersten Drittel findet scheinbar kein Wachstum statt.

Nach 4 Tagen: Die cylindrische Verflüssigung ist etwa 1 cm tief vorgedrungen. Am Boden des Verflüssigungstrichters liegen reichliche Mengen gelblicher Bakterienmasse. Auf der verflüssigten Gelatine beobachtet man eine feine graue Haut.

Nach 16 Tagen: Etwa die Hälfte der Gelatinesäule verflüssigt. Das flüssige Substrat ist stark und homogen getrübt; nur die unterste Schicht der Flüssigkeit erscheint fast klar. Das Auftreten dieser klaren Zone zwischen dem oberen trüben Teil der verflüssigten Gelatine und dem am Boden des Cylinders befindlichen gelblich grauen Sedimente ist ein charakteristisches Moment. Ich habe diese Erscheinung in allen Gelatinestichen beobachtet; sie tritt auch in Molkengelatinestichkulturen auf. Nach etwa 5—6 Wochen ist die ganze Gelatinesäule aufgelöst. Die Kultur besitzt, so lange der Bakterie noch feste Gelatine zur Verfügung steht, ein kräftiges und schönes Erdbeeraroma.

Molkengelatineplatte. Temp. 20° C.

Nur um den Einfluß des Substrates auf die Aromabildung der Pseudomonas fragaroidea zu prüfen, wurden Molkengelatineplatten gegossen, die alle mit einer bei 20° C gewachsenen Agarkultur geimpft wurden. Innerhalb 24 Stunden waren alle Platten flüssig und rochen schön nach Erdbeeren. Der Erdbeergeruch bleibt aber bei der Anwendung dieses sauren Nährbodens nicht so lange erhalten, wie wenn die Bakterie auf alkalischer Gelatine gezüchtet wird. Schon am 2. Tage war ein deutlicher Ammoniakgeruch wahrzunehmen, der nach weiteren 24 Stunden vorherrschte.

Molkengelatinestich. Temperatur 20° C.

Die Entwickelung eines Molkengelatinestiches verläuft ganz genau in derselben Weise wie die der vorher beschriebenen Gelatinestichkultur. Die Verflüssigung schreitet hier ebenso rasch vor, wie bei dieser. Wie schon erläutert wurde, zeigt sich auch in dem verflüssigten Substrat einer Molkengelatinestichkultur von 16 Tage Alter dieselben Erscheinungen wie beim Gelatinestich.

Agarplatte.

A. Bei 20° C.

a) Natürliche Größe.

1. Oberflächenkolonieen: Nach 48 Stunden kleine, tropfenähnliche, auf schwarzer Unterlage graue, beim durchfallenden Lichte

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wasserklare, schwach gelbliche, kreisrunde, saftig glänzende Beläge. Die 7 Tage alten Kolonieen besitzen eine Größe von etwa 1 mm, sind kreisrund, fast ganz flach, beim durchfallenden Lichte bräunlich und saftig glänzend. Auf schwarzer Unterlage erscheinen die Kolonien weißlichgrau, mit einem weißen oder gelblichgrauen Zentrum.

2) Tiefenkolonieen: Graue Pünktchen, die mit zunehmendem Alter kaum eine nennenswerte Vergrößerung erfahren. Dieselben entbehren jeden Charakters.

b) Bei 130-facher Vergrößerung.

1) Oberflächenkolonieen: Die 48-stündigen Beläge sind kreisrund, schwach gelblich, an der Peripherie farblos; die innere Zeichnung derselben ist feinkörnig. Der Rand der Kolonieen, welcher nur bei kleiner Blende sichtbar ist, erscheint fein gezähnt. In den späteren Stadien der Entwickelung bekommen die Kolonieen eine bräunlichgelbe Farbe; der Rand, welcher immer farblos bleibt, ist etwas zerrissen.

2) Tiefenkolonieen: Wetzsteinförmige oder mehr oder weniger ovale, bräunlich-gelbe, glattrandige, körnige Kolonieen.

B. Bei 37° C.

Die bei Bruttemperatur zur Entwickelung kommenden Kolonieen unterscheiden sich in nichts von den vorhin Charakterisierten; nur ist das Wachstum in den ersten Tagen etwas rascher bei 37° als bei 20° C. Unter dem Mikroskope betrachtet, zeigen die Oberflächenkolonieen in ihrem Innern einen dunklen Kreis, der dem Zentrum der Beläge näher liegt als der Peripherie. Die Tiefenkolonieen, welche bei 37° C wachsen, besitzen eine dunklere Färbung als die bei Zimmertemperatur gezüchteten. Außerdem sind sie durch konzentrische Zeichnung von diesen verschieden.

Agartupfkulturen. Temp. 20 bezw. 37° C.

Die Tupfkolonieen wachsen relativ schnell zu rundlichen, großen, bläulich-grauen, durchscheinenden, ausgebuchteten mehr oder weniger gelappten Belägen an, die nach einer Woche mehrere Centimeter im Diameter fassen. Bei 20° C ist die Ausbreitung der Kolonie eine raschere als bei der höheren Temperatur, ebenso sind die Beläge bei 20° C stark lappig, während die bei 37° C kultivierten einen nur wenig ausgebuchteten Rand haben. Sowohl diese wie jene Kolonieen zeigen eine deutliche konzentrische Schichtung.

Das Erdbeeraroma ist bei allen Agarplattenkulturen von geringer Dauer. In 24-stündigen Kulturen ist dasselbe sehr schön und rein, geht aber schon nach einigen Tagen in ein faules Aroma über. Bei 37° C verschwindet der Erdbeergeruch bedeutend schneller als bei Zimmertemperatur.

Agarstrich.

1) Temperatur 20° C: Innerhalb 24 Stunden entwickelt sich der Impfstreifen zu einem 1,5—2 mm breiten, glattrandigen, flachen, nur am Rande ganz schwach erhabenen, auf schwarzer Unterlage grauen, gegen den Himmel gehalten, bräunlichen Belag, dessen Oberfläche saftig glänzend ist. Die Konsistenz der Kultur ist vaselinartig weich, das Kondenswasser stark trübe. Ganz allmählich tritt im Agar eine allerdings schwache, aber deutlich wahrnehmbare, grüne Fluoreszenz auf. Mit zunehmendem Alter steigert sich auch dieselbe, bleibt aber immer ziemlich schwach. In den älteren Stadien besitzt der Belag kleinere Ausbuchtungen am Rande; die periphere Zone ist noch dadurch gekenn-

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zeichnet, daß sie quer zur Längsachse des Striches geschichtet ist. Die alten Kulturen besitzen eine etwas schleimige Konsistenz.

2) Temperatur 37° C: Der Strich nimmt bei dieser Temperatur ungefähr dasselbe makroskopische Aussehen an wie 1), nur ist hier die Oberfläche mehr matt oder höchstens fettglänzend. Zudem ist die Konsistenz dieser Kultur schon in den jüngeren Stadien schleimig. In den bei 37° gezüchteten Agarstrichkulturen wurde niemals Fluoreszenz beobachtet.

In Bezug auf die Morphologie der beiden Kulturen ist ein ziemlich bedeutender Unterschied zu verzeichnen. Die bei 20° C gewachsenen Individuen, welchen eine lebhafte Beweglichkeit zukommt, besitzen immer eine geringfügige Länge; die Stäbchen der bei 37° kultivierten Striche, von denen nur eine kleinere Zahl beweglich ist, erreichen dagegen schon in 48-stündigen Kulturen eine Länge von 4,5 μ. In 14-tägigen Kulturen, deren Stäbchen sich durchwegs schlecht färben lassen, trifft man sehr viele lange Zellen, die oft bis zu 90 μ lang sind. Mitunter haben sie eine Breite von 1,4 μ. Die unsegmentierten, langen Fäden sind ohne Ausnahme unbeweglich.

Der Erdbeergeruch bleibt bei den Agarstrichkulturen recht lange bestehen.

Agarstich.

1) Temperatur 20° C:

Bereits nach 24 Stunden kann man hier eine schwache Fluoreszenz in der obersten Schicht des Agars erkennen. Das Wachstum der Bakterie im Stichkanal ist langsam und findet nur im obersten Teil statt, während auf der Oberfläche der Substratsäule ein reichlicher, flacher, grauer, saftig glänzender, konzentrisch und noch deutlicher, radiär geschichteter Belag entsteht, der einen welligen oder ausgebuchteten Rand hat. Am 10. Tage hat sich dieser Belag fast bis zur Wand des Kulturglases ausgebreitet. Im Stichkanal ist die Bakterie zu dieser Zeit zur etwa halben Tiefe vorgedrungen. Ein Wachstum in den tiefsten Schichten des Nährbodens wurde niemals beobachtet. Ueber das Verhalten des Pseudomonas fragaroidae in H- und N-Atmosphären sei auf die anaëroben Kulturen, die am Schlusse dieser Mitteilung aufgeführt sind, hingewiesen.

Das Bakteriofluorescin diffundiert immer tiefer in die Agarsäule hinein. Am stärksten ist die Fluoreszenz des Substrates, wenn der Farbstoff bis zu 2 cm Tiefe gekommen ist. In älteren Stadien nimmt dieselbe wieder ab.

2) Temperatur 37° C:

Der Oberflächenbelag dieser Kultur unterscheidet sich von dem der vorhergehenden dadurch, daß derselbe recht erhaben und mehr fettglänzend ist. Die Randpartie zeigt keine größeren Ausbuchtungen, sondern ist höchstens schwach wellig. Der ganze Belag ist schön und deutlich konzentrisch geschichtet. Wie bei 1) tritt auch hier nur im obersten Teil des Stichkanals ein Wachstum ein.

Farbstoffbildung wurde niemals konstatiert.

1-proz. Dextroseagarstich. Temp. 20° C.

Wie für die Dextrosebouillonkulturen im folgenden erwähnt ist, tritt auch hier keine Fluoreszenz auf.

1-proz. Laktoseagarstich. Temp. 20° C.

Die Kultur entwickelt sich in gleicher Weise wie in alkalischem, zuckerfreiem Agar. Die oberste Schicht der Substratsäule besitzt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine sehr schöne, grüne Fluoreszenz. Wie bei der Beschreibung der Bouillonkulturen näher erörtert wird, greift die Bakterie den Milchzucker nicht an. (Vergl. hierzu Dextroseagar und Dextrosebouillon!)

Molkenagarstich. Temp. 20° C.

Für das Wachstum der Bakterie gilt hier dasselbe, was bei den vorher besprochenen Stichkulturen gesagt wurde. Auch in diesem schwach sauren Substrat tritt eine schwache Fluoreszenz auf. In 12-tägigen Kulturen schimmert die ganze Molkenagarsäule grünlich; die Fluoreszenz ist deutlich von der grünlichblauen Farbe des sterilen Molkenagars verschieden.

Bouillon.

a) Temperatur 20° C: Nach 24 Stunden ganz schwach getrübt. Auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmen kleine Inseln von Bakterienmasse, die beim leichtesten Schütteln zu Boden fallen. Am Boden ist ein ganz geringfügiges Sediment von sandiger Konsistenz entstanden. Am 2. Tage erscheint die Bouillon stark trübe. Hat man die in 24-stündigen Kulturen vorhandenen Inselchen auf der Oberfläche des Substrates unberührt gelassen, nimmt man jetzt eine einheitliche, feine, dünne Haut wahr, die beim Schütteln in einem Stück zu Boden fällt. Die Reaktion der Kultur ist stark alkalisch. Erst am 12. Tage beobachtet man in der obersten Flüssigkeitsschicht, welche übrigens klarer als die tieferen Schichten ist, eine schwache Fluoreszenz. Je älter die Kulturen werden, desto deutlicher fluoresziert die Flüssigkeit. Die Bouillon wird mit der Zeit etwas dickflüssig, schleimig; auch der gelblichgraue Bodensatz besitzt in den älteren Kulturen eine fadenziehende Konsistenz. Die Reaktion der Kultur bleibt immer stark alkalisch.

b) Temperatur 37° C: Das Wachstum verläuft wie bei a. Nur ist die Trübung der Bouillon eine viel geringere als in den bei 20° gehaltenen Kulturen. Auch wird der Bodensatz schon in den ersten Tagen fadenziehend. Die Kulturen fluoreszieren nicht.

Was das Aroma der Bouillonkulturen angeht, so ist zu bemerken, daß der Erdbeergeruch viel früher bei den bei 37° C gezüchteten Kulturen verschwindet, als dies der Fall bei den anderen ist. In 14-tägigen Kulturen, welche immer bei 20° C gehalten waren, konnte ein deutlicher Erdbeergeruch erkannt werden. Die gleichaltrigen, bei Bruttemperatur gewachsenen Kulturen rochen dagegen nur ganz schwach esterartig, jedoch nicht nach Erdbeeren; gleichzeitig war ein Geruch vorhanden, der an Urin erinnerte. 3 Wochen alte, bei 20° C gestandene Bouillonkulturen, die übrigens eine recht kräftige Fluoreszenz zeigen, riechen faul und daneben hauptsächlich nach Ammoniak.

1-proz. Dextrosebouillon. Temp. 20° C.

Ausschließlich um das Vorhandensein Dextrose-spaltender Enzyme festzustellen, wurden diese Kulturen angesetzt. Als Indikator darauf benutzte ich Lackmuspapier, wie bei allen anderen Prüfungen der Reaktion von den hier behandelten Kulturen. Das Resultat des Versuches war das folgende: Nach 24 Stunden alkalisch, nach 48 Stunden schwach alkalisch, nach 3 Tagen neutral, nach 4 Tagen schwach sauer, nach 5 Tagen recht kräftig sauer, nach 8 Tagen stark sauer, nach 14 Tagen stark sauer; Fluoreszenz oder Gasbildung wurde nicht beobachtet. Die 14-tägige Kultur besaß einen sauren, uncharakteristischen Geruch; Erdbeeraroma war zu dieser Zeit nicht vorhanden.

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1-proz. Laktosebouillon. Temp. 20° C.

Gegenüber Milchzucker verhält sich die Bakterie vollständig inaktiv. Säure wird nicht gebildet. Die Alkalität der Kultur nimmt mit dem Alter immer mehr zu. Parallel der Steigerung der alkalischen Reaktion geht auch die Zunahme der Fluoreszenz, die zwar nicht allzusehr in die Augen springend ist, die aber deutlich genug ist, um wahrgenommen werden zu können. In Bezug auf das Aroma ist folgendes zu erwähnen: Der Erdbeergeruch erhält sich, wie in zuckerfreier (d. h. von Milchzucker frei; eine Spur Glykose enthält ja jede Bouillon bekanntermaßen, diese Menge ist aber zu gering, um von einem bedeutenderen Einfluß auf die Aromabildung sein zu können) Bouillon recht lange. Nach 3 Wochen riechen die Milchzucker enthaltenden Kulturen noch schwach nach Erdbeeren oder nach Ananas: neben diesem Geruch tritt ein recht starker nach Cumarin hervor.

Milch. (Fettgehalt etwa 0,10 Proz.)

1) Temperatur 20° C:

In ihrem Verhalten in Milchkulturen zeigen die Erdbeeraroma-produzierenden Pseudomonas-Arten so große Unterschiede, daß sie schon hierdurch leicht auseinanderzuhalten sind. Pseudomonas Fragi und Pseudomonas Fragariae I verändern die Milch äußerlich nicht, die erstere verursacht aber nach kurzer Zeit eine stark alkalische Reaktion des Substrates, die letztere dagegen erst nach Wochen eine schwach alkalische. Pseudomonas Fragariae II bringt Milch zur sämigen Gerinnung bei saurer Reaktion des Nährbodens, während bei der hier behandelten Pseudomonas fragaroidea die Koagulation bei amphoterer Reaktion erfolgt.

Gruber[1]) hat neulich in einer Arbeit über den Bacillus Globigii darauf hingewiesen, welchen großen diagnostischen Wert die Milchkulturen haben, die hier oben angeführten Beispiele sprechen sehr deutlich für die Richtigkeit dieser Ansicht.

Pseudomonas fragaroidea ruft in Magermilch folgende Veränderungen bei 20° C hervor; nach 20 Stunden: keine sichtbaren Veränderungen, deutlicher Erdbeergeruch; nach 48 Stunden: die Milch erscheint in der allerobersten Schicht gelblichgrau, ist also hier schwach peptonisiert worden; nach 4 Tagen: labähnliche Gerinnung; auf dem ausgefällten Kasein schwimmt graugelbes, trübes Serum. Die Reaktion der Kultur ist amphoter. Das Koagulum wird jetzt allmählich aufgelöst. Am 10.—12. Tage nimmt man das Auftreten einer schwachen Fluoreszenz in der Kultur wahr. Nach 14 Tagen ist der größte Teil des Kaseins aufgelöst. Die Reaktion bleibt dabei neutral oder ganz schwach alkalisch. Das Erdbeeraroma, welches in 8—10-tägigen Kulturen schön und rein ist, geht nach und nach in einen mehr an Ananas erinnernden Geruch über. So besitzen z. B. 14 Tage alte Milchkulturen ein sehr kräftiges Ananasaroma, dessen Reinheit nur wenig durch einen peptonartigen Nebengeruch herabgesetzt wird.

2) Temperatur 37° C.

Bei dieser relativ hohen Temperatur werden scheinbar keine proteolytischen Enzyme erzeugt, denn nach der am 3.—5. Tage eintretenden Gerinnung der Milch tritt keine Veränderung in der Kultur ein. Die

1) Gruber, Beitrag zur Identifizierung des Bacillus mesentericus ruber. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

amphotere Reaktion bleibt auch in einen Monat alten Kulturen bestehen. Das Aroma ist in den Milchkulturen bei diesem Wärmegrad recht beständig. Der auch hier in ein Ananasaroma allmählich übergehende Erdbeergeruch kann noch am 14. Tage erkannt werden. 16-tägige Milchkulturen riechen schwach nach Ananas.

Kartoffel.

1) Temperatur 20° C.

Eine 24 Stunden alte Strichkultur besteht aus einem schmalen, schwach erhabenen, graugelben, saftig glänzenden Belag. Nach 48 Stunden ist der Belag durch eine mattglänzende Oberfläche, knorpeliges Aussehen und schmalzig gelblichgraue Farbe ausgezeichnet. Im Laufe der Entwickelung wird die Kultur immer erhabener, sich gleichzeitig mehr und mehr über die ganze Substratoberfläche ausbreitend. Dieselbe nimmt allmählich eine lehmähnliche Farbe an, die ins Rötliche spielt. Aeltere Beläge — etwa 3 Wochen alt — besitzen eine hell zimtähnliche Färbung. Eine zum Vergleich angesetzte Kartoffelkultur von Pseudomonas Fragariae II war zur selben Zeit fast schokoladen- oder siennabraun. Die Konsistenz der Kultur von Pseudomonas fragaroidea ist etwas schmierig, hart butterartig. Sowohl die jungen wie auch die älteren Stadien riechen sehr schön nach Erdbeeren, bezw. Ananas.

In mikroskopischer Hinsicht bestehen die bei 20° gezüchteten Kartoffelkulturen aus kurzen, mit abgerundeten Enden versehenen Zellen, die eine Länge von 0,7—1,05 μ und eine Breite von 0,6—0,75 μ haben. Längere, mehrzellige Verbände sind selten.

2) Temperatur 37° C.

Rasch sich ausbreitender, flacher, fettglänzender Belag, dessen Farbe von gelblichgrau allmählich in rötlichgrau, zimtähnlich und schließlich in schmutzig gelbgrau übergeht. Der Rand des Striches ist meistens etwas heller als die mittlere Partie desselben.

Das Aroma der Kultur erhält sich etwa 7 Tage, wo dieselbe schwach nach Ananas riecht.

Die Kartoffelkultur besteht aus meistens langen, gewundenen Individuen, die mitunter 80 μ lang werden. Die Enden der Stäbchen sind oft zugespitzt. Der Protoplast erscheint beim Färben mit Karbolfuchsin stark körnig.

Anaërobe Agarstrichkulturen.

Aus den Beschreibungen der resp. Stichkulturen der Pseudomonas fragaroidea geht hervor, daß dieselbe nur im obersten Teil des Stiches zur Entwickelung kommt. Es war demnach wahrscheinlich, daß sie unter anaëroben Verhältnissen nicht gedeihen würde. Die angestellten Versuche, die Bakterie in H- bezw. N-Atmosphäre zu züchten, zeigten aber, daß dieselbe auch bei Abwesenheit freien Sauerstoffs im stande ist, sich zu vermehren. Die Entwickelung der bei diesen Experimenten benutzten Agarstrichkulturen war allerdings nicht besonders kräftig, sondern vielmehr recht schwach, das Ergebnis der Versuche beweist aber, daß Pseudomonas fragaroidea nicht zu den obligaten Aërobionten gehört. Die anaëroben Kulturversuche wurden sowohl bei 20 wie bei 37° C ausgeführt und zweimal wiederholt; sie gaben immer dieselben Resultate. In allen Fällen waren die Kulturen reich an langen Individuen; in einer fünftägigen, bei 37° C und in N-Atmosphäre ge-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haltenen Agarstrichkultur kamen unsegmentierte Fäden von bis zu 130 μ Länge vor. Die bei Zimmertemperatur gewachsenen Kulturen — auch 14-tägige — bestanden zu einem großen Teil aus beweglichen Oidien; in bei 37° C gezüchteten Strichen war dagegen die Zahl der Schwärmer klein. (Vergl. hierzu die aëroben Agarstrichkulturen!)

Chemische Leistungen.

Die Untersuchungen über die von der Pseudomonas fragaroidea produzierten Stoffwechselprodukte erstreckten sich nur auf den Nachweis von Indol, Nitrit und Schwefelwasserstoff. Keine von diesen Verbindungen wird gebildet.

Für den Nachweis des Indols benutzte ich das sog. Ehrlichsche Reagens, welches von Böhme[1]) voriges Jahr empfohlen wurde. Bei einigen Vergleichen mit reinen, wäßrigen Indollösungen, bezw. mit Indol enthaltendem Peptonwasser erwies sich die Reaktion als äußerst empfindlich. In einer Verdünnung 1:10000000 (Wasserlösung) war das Indol noch deutlich nachzuweisen. Die Rotfärbung trat allerdings erst nach 5—7 Minuten auf, der positive Ausfall des Versuches spricht aber sehr deutlich für die Empfindlichkeit des Reagenses. In so starken Verdünnungen in Bouillon oder Peptonwasser läßt sich natürlich das Indol nicht nachweisen, denn die gelbe Farbe des benutzten Substrates verdeckt in diesem Fall die Rotfärbung mit dem Ehrlichschen Reagens. Es genügt aber auch vollkommen, wenn so geringe Mengen wie 1:1000000 qualitativ bestimmt werden können, was durch die Ehrlichsche Reaktion geschieht. In diesem Falle versagt die Nitrosoindolreaktion, welche nach Böhme Indol erst in einer Konzentration 1:100000 anzeigt, was ich bestätigen kann.

In der folgenden Tabelle sind die prägnantesten Charaktere der Erdbeergeruch erzeugenden Pseudomonas-Arten nebeneinander aufgestellt.

	Pseudomonas Fragi	Pseudomonas Fragariae I	Pseudomonas Fragariae II	Pseudomonas fragaroidea
Morphologie	Polar begeißeltes Stäbchen			
Wachstum bei 37° C	—	+	—	+
Bacteriofluorescin-Bildung	—	+	—	+
Produktion proteolyt. Enzyme	—	—	+	+
Milchkultur	keine Veränderung, stark alkal. Reakt.	keine Veränd. schwach alk. Reaktion	Gerinnung; stark saure Reaktion	Gerinnung; amphotere Reaktion

Stockholm im Juli 1907.

1) Böhme, A., Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XL. Orig. 1906.)

Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Morphologische und physiologische Beschreibung einiger Penicillium-Arten.

Von **Carl Weidemann.**

Mit 8 Figuren.

Einleitung.

In der älteren Literatur über die Gattung Penicillium finden sich viele Unsicherheiten und Irrtümer, einmal über die Stellung der Gattung im System, dann über ihre Gliederung in einzelne Arten.

Die systematische Stellung der Gattung hat erst 1874 Brefeld durch seine lückenlose Untersuchung des Entwickelungsganges von Penicillium glaucum endgültig festgelegt.

Seitdem hat auch die andere Seite der Penicilliumforschung, nämlich die Beschreibung der einzelnen Species, bedeutende Fortschritte gemacht. Die früheren Angaben waren entweder ungenau und widersprechend, oder zu kurz, so daß es meistens unmöglich war, nach ihnen die betreffenden Arten wieder zu erkennen. Erst seitdem man immer mehr Wert darauf legt, diese morphologisch zum großen Teil so außerordentlich ähnlichen Pilze auch physiologisch zu charakterisieren, ist hier eine Besserung eingetreten. Denn nur sehr wenige Arten lassen sich überhaupt morphologisch so gut beschreiben, daß ein Botaniker, der nicht gerade Spezialist auf diesem Gebiete ist, sie ohne eingehende Untersuchung, allein durch mikroskopische und makroskopische Betrachtung, mit Sicherheit bestimmen kann.

Auf Grund dieser Einsicht sind in den letzten Jahrzehnten die Angaben über Penicillium-Arten gründlicher geworden. So hat Wehmer z. B. P. glaucum, italicum und olivaceum eingehend beschrieben. Nach ihm hat Stoll 1905 in ausführlich mitgeteilten Versuchen 7 Arten untersucht: P. brevicaule, crustaceum, olivaceum, italicum, luteum, purpurogenum, rubrum. Er pflegt, das Substrat und seine Herstellung anzugeben. Durch Messungen und Zeichnungen sowie durch Beschreibung der einzelnen Wachstumsstadien auf den verschiedenen Substraten hat er brauchbares Material geliefert. Johan Ohlsen hat gleichfalls die Entwickelung seiner Kulturen mit dem Penicillium aromaticum caseï I, II und III ausführlich beschrieben, versäumt es aber leider, wie unbedingt notwendig, genau die Zusammensetzung der Nährmedien anzugeben. Wertvolle Beiträge zur Kenntnis der Arten, die bei der Käsereifung beteiligt sein können, hat kürzlich Thom geliefert. Thom hat, unterstützt von Conn, Woodsworth, Stocking und Issajeff, die Pilze des Roquefort- und Camembertkäse untersucht und beschrieben. Die Zusammensetzung einiger Nährmedien ist genau angegeben, die morphologische und physiologische Seite der Pilze gleichmäßig berücksichtigt. Großen Wert legt Thom darauf, direkt auf dem Substrat zu beobachten.

Er fügt hinzu:

1) daß die Morphologie nicht nur die genauesten Einzelheiten der Zellstruktur und alle Beziehungen, wie sie sich ungestört in flüssigen Nährmedien finden, einschließen soll, sondern auch die ganze Erscheinung und den Charakter der Kolonie;

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) daß, je nach dem Substrat, der Pilz verschieden wächst, sein Wachstum für das einzelne aber immer konstant ist;

3) daß deshalb die Zusammensetzung des gebrauchten Mediums und die näheren Bedingungen anzugeben sind.

Der gleichen Ansicht ist J. Arthaud-Berthet: „J'ai constaté que toutes ces races varient d'aspect suivant le milieu de culture . . ., mais, après 3 mois de passage successif sur différents milieux elles ont repris dans les conditions bien déterminées les mêmes caractères distinctifs qu'elles présentaient au début.“

Trotz dieser prinzipiellen Einsicht, daß Kulturversuche in größerem Maße zur Charakteristik der Arten nicht zu umgehen sind, sind im wesentlichen doch nur die wenigen, schon aufgezählten Species so untersucht worden. Unsere Kenntnis der Gattung ist also noch immer eine mangelhafte, trotzdem z. B. Saccardo in seinem Sylloge fungorum über 50 Arten angibt und beschreibt.

Deshalb ist hier der Versuch gemacht worden, einige der schon erwähnten und einige weitere Penicillium-Arten genau zu charakterisieren, und zwar im Sinne der genannten Forscher. Aehnlich wie Stoll, beabsichtige ich, zunächst durch Zeichnungen und Messungen bei denselben Vergrößerungen die Arten morphologisch zu vergleichen, dann aber besonders durch Züchtung auf verschiedenen Nährböden biologische Anhalte für die Charakteristik zu gewinnen. Diese letztere Seite wird bedeutend mehr berücksichtigt werden, da sie nach meiner Ueberzeugung gerade bei dieser Gattung unentbehrlich ist, weil ihre Resultate weitaus verschiedener und deshalb eindeutiger sind, als die so ähnlichen morphologischen Ergebnisse.

Ich habe mich im wesentlichen darauf beschränkt, ernährungsphysiologische Fragen nur so weit zu verfolgen, als es nötig war, um Unterschiede im Verhalten der Species aufzufinden. Meiner Meinung nach war eben das Notwendigste und Nächstliegende die Festlegung der Arten.

Bei den Kulturen in Nährlösungen ist Wert gelegt auf möglichst einfache Zusammensetzung, denn nur so ist es möglich, den Versuch jederzeit zu wiederholen, und dies ist der einzig gangbare Weg, der aus der Relativität der Angaben herausführt und die vielen ähnlichen Penicillium-Formen trennen lehrt. Zugleich treten bei so einfacher Ernährung die physiologischen Eigentümlichkeiten am klarsten hervor und wegen der Uebersichtlichkeit der gebotenen Nahrung ist es leicht, durch wenige Kulturen Aufschluß über physiologische Fragen zu erhalten. Aus diesen Gründen wurde die Verwendung flüssiger Medien zu den Kulturen bevorzugt. Damit sind dann noch weitere Vorteile verbunden, nämlich einerseits finden sich in der Wuchsform, d. h. im makroskopischen Aussehen, auf Flüssigkeiten größere Verschiedenheiten, und andererseits läßt sich leichter und unverletzt ein Stückchen der Kolonie zur mikroskopischen Untersuchung abheben als von einem festen Substrat.

Im Gegensatz zu Stoll untersuchte ich keine Arten, die jahrelang in Laboratorien gezüchtet waren, sondern ging darauf aus, die Pilze möglichst vom natürlichen Standort zu erhalten. Nur das von mir Penicillium kiliense benannte stammt aus einem Laboratorium. P. roqueforti fand ich auf Roquefort- und Gorgonzolakäse, P. camemberti auf Brie und Camembertkäse. P. olivaceum und italicum wuchsen auf Apfelsinen und Citronen. Es ist schon mehrfach darauf hingewiesen worden, daß außer Citronen und Apfelsinen keine Südfrüchte eingehender auf spezifische Penicillien hin untersucht sind.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Deshalb beobachtete ich die auf Bananen entstehende Pilzflora. Neben anderen Penicillien fand sich besonders die von mir P. musae benannte Form. Auf der Schale einer großen Walnuß wuchs eine Art, die ich P. juglandis nennen möchte.

Auf diese beiden Arten, wie auch auf P. kiliense, paßt keine der bisher gegebenen Beschreibungen von Penicillien. Es ist freilich nicht ausgeschlossen, daß einem der älteren Forscher die eine oder die andere dieser Species vorgelegen hat, aber jedenfalls war es wegen der gänzlich unzulänglichen alten Charakteristiken unmöglich, mit einiger Sicherheit Identität mit einer der beschriebenen Formen nachzuweisen. Um mich nun im Ausdruck möglichst kurz fassen zu können und weil ich hoffe, die drei neuen Species genügend charakterisiert zu haben, habe ich die genannten Namen neu eingeführt.

Vorbemerkungen.

In der Literatur bestehen Differenzen in der Bezeichnung der Teile des Konidienträgers. Brefeld, Stoll und Thom nennen die flaschen- bis keulenförmigen, wirtelig stehenden Endzellen des Pinsels, die direkt die Konidien abschnüren, Basidien, ihre meist kräftigeren Tragzellen Basidienträger. Wehmer, Schröter und Lindau brauchen dagegen für die entsprechenden Teile die Bezeichnungen Sterigme und Basidie. Es entspricht also dem Brefeldschen Basidienträger bei Wehmer die Basidie. Ich werde mich Wehmers Ausdrucksweise anschließen. Form und Größe der Sterigme und Basidie sind für die einzelne Art konstant, wenigstens in weiteren Grenzen, sind also mit einiger Vorsicht zur Charakteristik zu verwenden.

Reinkulturen wurden durch wiederholtes Plattenverfahren gewonnen. Die Konidien wurden in möglichst kleiner Menge mittelst der Platindrahtspitze in ein Reagenzglas mit sterilisiertem Wasser überführt. Nach kräftigem Schütteln wurde mit der Platinöse flüssige Gelatine geimpft, die in Petri-Schalen ausgegossen wurde. Durch wiederholte Anwendung dieses Verfahrens läßt sich leicht eine Reinkultur herstellen und in der gleichen Art sind im Laufe der Untersuchung die Kulturen von Zeit zu Zeit auf Verunreinigung hin geprüft.

Alle Kulturen entwickelten sich, wenn nicht anders bemerkt, bei 20—25°, unter sonst gleichen Bedingungen. Für alle Arten wurde jedoch auch das Wachstum bei 11° untersucht. Da die Pilze sich im allgemeinen dabei langsam, aber doch im übrigen normal entwickelten, werde ich nur dann bei den einzelnen Species hierauf zurückkommen, wenn sich Abweichungen fanden.

Die Kulturen standen in nur schwachem, gedämpftem Licht.

Stets wurden mehrere Parallelkulturen angelegt oder der Versuch wiederholt, die wichtigsten Erscheinungen besonders oft geprüft.

Die angegebenen Maße sind Durchschnittswerte.

Die Zeichnungen wurden mit dem Zeichenapparat bei 840-facher Vergrößerung angefertigt.

Das Wachstum auf Kartoffeln, Möhren, Zitronenscheiben wurde in Petri-Schalen, auf Gelatinen auch in Reagenzröhrchen, auf Reis und allen flüssigen Substraten in Erlenmeyerschen Kolben untersucht.

Die Keimungs- und Wachstumsvorgänge wurden besonders in Objektträgerkulturen (Zuckergelatine) beobachtet. Diese Kulturen entwickelten sich in der feuchten Kammer bei 18—20°. Auch die vergleichenden Zeichnungen wurden nach diesen Objektträgerkulturen angefertigt.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zwecks mikroskopischer Untersuchung wurde das Material immer in Alkohol abgespült, um die überreichlichen Konidien fortzuschaffen und eine gleichmäßige Benetzung zu ermöglichen. Darauf wurde dann in einer Mischung von Glycerin und Wasser beobachtet.

Bei dem Impfen wurde darauf gesehen, immer nur von frischen aber ausgereiften Kulturen abzuimpfen und durch gelegentliches Wiederherstellen derselben Lösungen die Konstanz der Wachstumserscheinungen zu erweisen. Auf möglichst gleichmäßiges Impfen wurde geachtet.

Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien.

Es wird stets der Name vorangestellt, mit dem das Substrat in der weiteren Ausführung kurz bezeichnet ist. Aus rein praktischen Gründen ist dabei manchmal eine Bezeichnung gewählt, die nicht genau richtig ist (z. B. 6-proz. Zitronensäure), sich aber durch Kürze empfiehlt.

Gewöhnliche Gelatine:

50 g Gelatine
500 ccm destilliertes Wasser
6 g Pepton Witte
4 g Fleischextrakt (Liebig)

Die Mischung wurde nötigenfalls durch $CaCO_3$ neutralisiert.

Zuckergelatine: Gewöhnliche Gelatine mit Zusatz von je 2,5 g Traubenzucker auf 100 ccm Wasser.

6-proz. saure Gelatine: 6 ccm Normalschwefelsäure wurden zu 100 ccm gewöhnlicher Gelatine hinzugesetzt.

2-proz. alkalische Gelatine: entsprechend 2 ccm Normalnatronlauge.

Würzegelatine: 8 g Gelatine zu 100 g Brauereiwürze.

Lackmusgelatine: Rote Lackmusgelatine war durch Normalsäure schwach gesäuerte und durch Lackmuslösung rot gefärbte Zuckergelatine. Entsprechend wurde blaue Gelatine hergestellt.

Kartoffel: Scheiben von sorgfältig gereinigten Kartoffeln wurden an aufeinander folgenden Tagen 2—3 mal im Dampftopf je $^1/_2$ Stunde sterilisiert.

Simonsbrot (das bekannte im Handel käufliche Schrotbrot), Zitronenscheiben und Möhrenscheiben wurden ebenso wie die Kartoffel behandelt.

Reis: Je 20 g Reis wurden in einem großen Kolben mit 100 ccm destilliertem Wasser 30 Minuten gekocht, dann am nächsten Tage noch $^1/_4$ Stunde im Dampftopf sterilisiert.

Traubenzuckerlösungen.

Lösung I:
100 ccm dest. Wasser
0,1 g KH_2PO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
$^1/_4$ g Ammoniumnitrat
3 g Traubenzucker

Lösung II: I durch dest. Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt.

Schwach alkalische Traubenzuckerlösung:
K_2HPO_4 statt KH_2PO_4.

Neutrale Traubenzuckerlösung: I neutralisiert durch $CaCO_3$.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Rohrzucker: 100 ccm dest. Wasser
0,1 g K_2HPO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g Ammoniumnitrat
3 g Rohrzucker

KNO_3-Rohrzucker:
100 ccm dest. Wasser
0,1 g K_2HPO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g KNO_3
3 g Rohrzucker

KNO_3-Traubenzucker: Nur Traubenzucker statt Rohrzucker.

$NaNO_2$: 100 ccm dest. Wasser
0,1 g K_2HPO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g $NaNO_2$
3 g Rohrzucker

Glycerin: 100 ccm dest. Wasser
0,1 g KH_2PO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g Ammoniumnitrat
1 ccm Glycerin

Ohne Stickstoff:
100 ccm dest. Wasser
0,1 g KH_2PO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
3 g Traubenzucker

Asparaginrohrzucker:
100 ccm dest. Wasser
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
0,1 g K_2HPO_4
3 g Rohrzucker
0,1 g Asparagin

Asparagin-K_2HPO_4 und
Asparagin-KH_2PO_4 entsprechend, nur ohne Rohrzucker.

Die Asparaginkulturen wurden zweimal je 20 Minuten im Dampftopf sterilisiert.

Pepton: 100 ccm dest. Wasser
0,1 g KH_2PO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g Ammoniumnitrat
1/2 g Pepton

Stärke: 100 ccm dest. Wasser
0,1 g K_2HPO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g Ammoniumnitrat

Je 50 ccm dieser Lösung wurden in einen Kolben gegossen und dann je 0,2 g Arrowroot oder 0,1 g Hoffmannstärke (Reis) zugesetzt. An zwei aufeinanderfolgenden Tagen wurde kurz aufgekocht, zum Schluß durch Fehlingsche Lösung gezeigt, ob sich durch das Kochen Zucker gebildet hatte.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zitronensäure:

100 ccm dest. Wasser
0,1 g KH_2PO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g Ammoniumnitrat

und 2, 5, 6 oder 8 g Zitronensäure.

Na_2CO_3:

100 ccm dest. Wasser
0,1 g K_2HPO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g Ammoniumnitrat
3 g Traubenzucker

mit 2, 1 1/2, 1, 1/4 und 0,15 g Na_2CO_3 (immer ohne Kristallwasser).

Es wurde diese Lösung mehrmals kurze Zeit im Dampftopf sterilisiert. Dabei wurden die Lösungen bis 1/4 Proz. hell gelblichbraun, die höheren dunkelbraun durch Karamelbildung.

1/8-proz. Na_2CO_3-Rohrzucker und

1/8-proz. Na_2CO_3-Traubenzucker wurden entsprechend hergestellt.

Tannin: 10 oder 25 g Tannin wurden gelöst in:

100 ccm dest. Wasser
0,1 g KH_2PO_4
0,1 g $MgSO_4$ + Aqua
1/4 g Ammoniumnitrat
3 g Rohrzucker

Die Lösungen wurden nur sehr kurze Zeit auf 100° erhitzt.

Ich untersuchte das Wachstum auf Tannin, um damit der Frage näher zu treten, ob Gerbstoffe, wie allgemein angenommen, nur die Fäulnisbakterien abhalten, oder ob sie auch als Schutzmittel gegen Schimmelpilze, also speziell Penicillium-Arten, zu betrachten sind.

Milch: Milch wurde einmal kurze Zeit im Dampftopf bei 100°, dann am nächsten Tag im Autoklaven bei geringem Ueberdruck nochmals einige Minuten sterilisiert.

Wenn bei den Nährlösungen nichts anderes angegeben ist, wurden sie im Autoklaven bei 130° 1/2 Stunde sterilisiert.

Von den flüssigen Nährmedien wurden immer je 50 ccm in Erlenmeyersche Kolben gegossen.

1. Penicillium kiliense n. sp.

Der Pilz wurde mir von befreundeter Seite als P. italicum zugestellt; bei näherer Untersuchung zeigte sich aber, daß eine andere Art vorlag. Die eigentliche Herkunft war nicht zu ermitteln.

Mikroskopische Untersuchung.

Die Dicke der vegetativen Hyphen und ebenso der Konidienträger schwankt zwischen 2,4 und 3,5 μ, meistens beträgt sie 3,0 μ. Zellenlänge 33 μ (22—38 μ). Der Konidienträger zeigt einen kräftigen, etwas gedrängten Bau, besonders die Basidien, die bei einer Breite von 3,5 μ nur 10—12 μ lang sind. Die Sterigmen sind zum Teil flaschenförmig, unten abgerundet und ziemlich breit, oben schnell verjüngt, zum Teil sind sie aber auch gleichmäßig breit. Sie sind ebenfalls verhältnismäßig kurz und kräftig, Länge 10 μ. Die Konidien werden durch eine Querwand am engen Hals abgeschnürt. Sie sind zunächst elliptisch und

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

etwas kleiner als die reifen, die fast rund bis rund werden können. Sie sind durchschnittlich 3,3—3,8 μ lang und 3,0—3,3 μ breit. Unter dem Mikroskop ist ihre Farbe hellgrün. Ihre Kontur ist dünn und scharf begrenzt. Die Konidien werden in langen Ketten abgeschnürt. In einigen Fällen waren deutliche Verbindungsstückchen zwischen den Konidien einer Kette sichtbar. Keimung trat in Zuckergelatine nach 14 Stunden ein; dabei schwollen die Konidien auf 6—7 μ Länge und 5,0 μ Breite an. Keimschläuche traten nur einzeln auf. Septierung der Schläuche beginnt nach 40 Stunden.

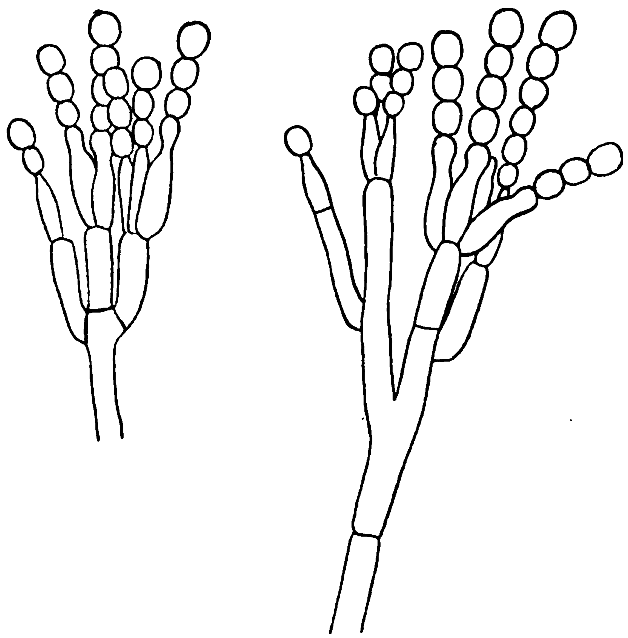


Fig. 1. Penicillium kiliense. Vergr. 840.

Physiologische Beobachtungen.

Gelatinen: Der Pilz wächst auf neutraler Zuckergelatine, Würzegelatine und gewöhnlicher Gelatine im wesentlichen gleich. Am zweiten Tag wird ein farbloses Mycel sichtbar, das kräftig wächst und schon am dritten Tag sich infolge der Konidienbildung grün färbt. Ein scharf begrenzter weißer Rand von sterilen Hyphen wird von dieser Species hier (im Gegensatz zu anderen Arten) nicht gebildet. Langsam geht die Farbe in ein Blaugrün über. Nach 2—3 Wochen nehmen die Kulturen einen dunkelgrauen Ton an. Die Unterseite der Kulturen ist farblos bis gelblich. Verflüssigung der neutralen und alkalischen Zucker- und gewöhnlichen Gelatinen tritt nicht ein, während 6-proz. saure Gelatine, freilich erst nach mehreren Wochen, verflüssigt wird. Der Pilz wächst auf 6-proz. sauren Gelatinen besser als auf 2-proz. alkalischen. Die Polster hatten auf allen Gelatinen durch 1—2 mm hoch stehende Hyphen ein schwach samtartiges Aussehen.

Kartoffel: Auf diesem Substrat wächst der Pilz besonders üppig. Die weißen Mycelpolster färben sich schnell blaugrün. Ein dunkelgrüner Kern war stets von einem scharf abstechenden weißen Rand umgeben. Nach mehreren Tagen zeigt sich am Rande der Polster und dicht darunter eine intensiv gelbe Färbung der Kartoffel.

Reis: Eine ganz gleiche gelbe Farbe nimmt Reis an. Das Wachstum ist sehr kräftig. Die Kultur wird dunkelgrün. Die Farbe hielt sich, ebenso wie die Gelbfärbung, 2 Monate lang frisch.

Möhrenscheibe: Nach 2 Tagen schon zeigen sich zarte, hochragende weiße Hyphen. Am dritten Tag verfärbt sich die Kultur von der Mitte aus zu einem dunkelgrün mit bläulichem Schimmer.

Zitronenscheibe: Das weiße Mycel färbt sich durch die Konidienabschnürung zunächst hell blaugrün, um allmählich einen dunkelbläulichen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ton anzunehmen. Das Wachstum ist kräftig, aber nicht so stark wie auf Kartoffeln und Reis.

Simonsbrot. Der Pilz zeigt nichts Bemerkenswertes.

Traubenzuckerlösungen: In den Lösungen I und II zeigen sich 2 Tage nach der Impfung kleine, dünne Mycelflocken, auch am Boden des Kolbens. Nach 4 Tagen sind die Flocken zu dichten runden Inselchen geworden, von 1—3 mm Durchmesser, die sich von der Mitte aus blaugrün färben. Diese Inseln vergrößern sich schnell, zeigen aber stets einen schmalen weißen Rand wie auf der Kartoffel. Die Polster sind kaum gewölbt und fest, dichtfilzig, ganzrandig. (Die Kulturen dieses Pilzes waren durch diese Wuchsart, die fast in allen Nährlösungen auftrat, wo überhaupt eine gute Entwickelung stattfand, auf den ersten Blick zu unterscheiden.) Nach etwa 10 Tagen krümmen sich die Inseln, zugleich greifen weiße Wucherungen von der hellgefärbten Unterseite nach oben über und überwachsen das Grün zum großen Teil, so daß bald nur würstchenartige dichte Körper auf der Lösung schwimmen. Das Weiß der Unter- und Oberseite geht zugleich in ein Hellgelb bis Gelb über. Die Flüssigkeit bleibt klar. Die alten Kulturen haben einen eigentümlichen sauren, nicht unangenehmen Geruch. Das Wachstum ist mittelstark.

Glycerin: Das Wachstum ist im Anfang etwas schwächer. Die Farbe der Kultur ist dunkelgrün, die der Unterseite gelblich. Die Inseln krümmen sich ähnlich wie in I und II, aber nicht so stark und vollständig.

Rohrzuckerlösung: Hier wächst der Pilz besser als in den bis jetzt erwähnten Lösungen. Es treten wieder dunkelgrün-bläuliche Inseln auf mit scharf weißem Rand, dichtfilzig. Sie sind oft etwas gewölbt.

KNO_3 und $NaNO_2$: KNO_3 gibt mit beiden Zuckerarten nur mäßige Kulturlösungen. Weißgraue Flocken bilden sich langsam und färben sich hell bläulichgrün, ohne daß ein weißer Rand bleibt. Später wird die Kultur dunkelgrün. Die Unterseite bleibt weißlich, die Flüssigkeit klar. $NaNO_2$ ist eine ungenügende Stickstoffquelle. In einer Woche wächst zwar eine ganz dünne Schicht, aber dabei bleibt es auch. Es kommt nur zu schwacher Konidienbildung ohne Grünfärbung.

In einer KNO_3-Traubenzuckerlösung zeigten sich nach 3—4 Wochen besonders stark gelb gefärbte Partieen der Unterseite. Es gelang, aus der filzigen Decke zahlreiche feste, gelbe, glatte Körnchen (Sklerotien) zu isolieren. Oft saßen mehrere zusammen, wie es bei anderen Arten schon von Brefeld und Wehmer beobachtet und gezeichnet wurde. Sie hatten kugelige bis längliche Form, die größten waren 0,5 mm lang.

Asparagin: In den beiden zuckerfreien Asparaginlösungen (mit K_2HPO_4 und KH_2PO_4) zeigt sich nur ein schlechtes Wachstum, besonders bei K_2HPO_4. Die Lösung mit Rohrzucker dagegen ruft mittelkräftiges Wachstum hervor. Schon nach 4 Tagen tritt hellbläuliche Färbung ein. Aus dem anfänglich staubartigen bis strahligen Mycelüberzug entwickelt sich eine zusammenhängende Decke von der schon geschilderten filzigen Art und der dunkelgrünen Färbung. Ebenso tritt der schmale weiße Rand wieder auf. Die Unterseite ist weiß bis gelblich.

In Asparaginrohrzucker zeigte sich nach 7 Wochen eine oben weißliche, unten gelbliche Verdickung der Ränder. Es fanden sich hierin Sklerotien. Auf Querschnitten zeigte sich ein breiter gelber Ring von pseudoparenchymatisch verschlungenen Hyphen, in dessem Innern dunkelgrüne Hyphen und schwach elliptische Asken mit kräftiger Wandung beobachtet wurden. Den Inhalt habe ich nicht näher untersucht.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stärke: In Arrowroot- und Reisstärke wächst der Pilz mittelgut. In 5 Tagen hat sich eine bläuliche Schicht gebildet. Ein weißer Rand ist kaum oder schlecht entwickelt. Später wird die Decke fester, filziger und tiefgrün. Die Unterseite bleibt hell.

Pepton: Eine Entwickelung tritt erst sehr spät auf, zeigt dann aber das normale Verhalten.

Saure und alkalische Substrate: Der Pilz vermag noch in 6-proz. Zitronensäurelösung zu wachsen; freilich bilden sich nur weiße Kügelchen, auch unten in der Lösung. Die Flüssigkeit färbt sich ebenso wie die Kügelchen intensiv gelb. Dies tritt besonders in der 2-proz. Lösung hervor, wo sich kleine, weiße Inseln bilden, die unten tiefgelb werden. Auch in alkalischen Lösungen gedeiht der Pilz, und zwar weit besser als die anderen untersuchten Arten. In $^1/_4$-proz. und 1-proz. Na_2CO_3-Lösungen bilden sich, freilich erst nach 1—2 Wochen, etwas gewölbte, grüne, dichte Inseln ohne Rand. In einer Lösung von Traubenzucker mit $^1/_8$ Proz. Na_2CO_3 bildet sich schnell eine kräftige Decke aus, oben blaugrün, unten weiß. In der entsprechenden Rohrzuckerlösung gedeiht der Pilz dagegen ziemlich schlecht und zeigt eine hellgrüne Färbung. In $1^1/_2$-proz. und 2-proz. Na_2CO_3-Lösungen zeigen sich nach 2—3 Wochen kleine grünliche, halbkugelförmige Inseln, die bald, wie in allen Na_2CO_3-Lösungen, sich oliv bis braun färben. Blaue Lackmusgelatine zeigt nur vorübergehend eine schwache Säuerung an, rote dagegen nach längerer Zeit eine ziemlich starke Bläuung. Aus chemischer Untersuchung ergibt sich, daß diese Art Oxalsäure in allen Na_2CO_3-Lösungen gebildet hat, während sie sonst nicht nachzuweisen war, nur einige Male in KNO_3-Lösung. Die starke Alkaleszenz, die der Pilz verträgt, erklärt sich also durch Neutralisation durch gebildete Oxalsäure. Es bleibt übrigens nicht bei der Neutralisation, sondern diese Lösungen werden alle etwas sauer. Ein Vergleich aller erwähnten Kulturversuche führt zu dem Ergebnis, daß der Pilz zwar innerhalb weiter Grenzen gedeiht, aber am besten in neutralen oder fast neutralen Medien wächst.

Milch: Es wird verhältnismäßig rasch eine dunkelgrün-bläuliche Decke gebildet. Am Glase und am Rande der Inseln zeigt sich eine ähnlich intensive gelbe Färbung wie auf der Kartoffel. Das Kaseïn wird schnell gelöst, so daß die Lösung bald klar wird.

Tannin: In Rohrzuckerlösung mit 10 g Tanninzusatz vermag diese Art noch schwach sich zu entwickeln.

Charakteristisch im allgemeinen ist die flache, dichtfilzige Wuchsform und die dunkelgrün-bläuliche Farbe. Der Pilz ist auffallend durch die gelbe Färbung vieler Substrate, wie Kartoffel, Reis, Milch. Er vermag bei weitem stärker alkalische Lösungen zu vertragen als alle anderen untersuchten Species. Auf sauren Lösungen zeigt er bedeutende Krümmung der schwimmenden Mycelpolster. Sein Wachstumsvermögen ist durchschnittlich recht groß. Es ist die einzige Art, bei der Sklerotien gefunden wurden. Sie sind gelb und glatt, bis 0,5 mm groß.

2. Penicillium juglandis n. sp.

Dieser Pilz fand sich auf einer Walnuß in einem Fruchtgeschäft Kiels. Er bildete auf der Schale der Nuß einen dunkelgrünen, körnigen Ueberzug.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopische Untersuchung.

Die Hyphen sind 2,5—3,0 μ breit. Die Zellenlänge variiert in ein und derselben Hyphe sehr, schwankt zwischen 20 und 33 μ. Durchschnittlich ist eine Zelle 30 μ lang. Der Konidienträger ist ein wenig breiter: 3,0—3,5 μ. Er ist wenig verzweigt. Das Ende jedes Zweiges pflegt stempelartig verbreitert zu sein. Auf dieser Fläche sitzen die Basidien oder direkt die Sterigmen. Die Basidien zeigen ihrerseits oben eine ähnliche Verbreiterung. Die ziemlich schmalen und langen Basidien sind oft in Dreizahl vorhanden. Auf ihnen entspringen nur wenige Sterigmen, meist 3 oder 4. Sie sind schlank und gleichmäßig 2,5—3,0 μ breit und gegen 12 μ lang. Unten sind sie etwas abgerundet und oben allmählich in einen ziemlich breiten Hals verjüngt. Die hier abgeschnürten Konidien sind elliptisch und bleiben im wesentlichen so bis zur Reife; sie runden sich nur etwas ab, werden nicht mehr länger. Die jungen Konidien messen 1,9 : 2,7 μ, die reifen 2,3 : 2,7 μ. Ihre Membran ist einfach. Manchmal fanden sich dunkle Brücken zwischen den Konidien, jedoch nur zwischen den reifsten. Sie lösten sich so, daß an jeder Konidie die Hälfte als eine schwarze, kleine Scheibe sitzen blieb. Die Konidien lösen sich leicht, so daß nur kurze Ketten zu beobachten sind. Keimung tritt in Zuckergelatine in 15 Stunden ein. 2 Keimschläuche wurden oft (in einigen Fällen auch 3) beobachtet. Septierung der Hyphen tritt am 2. Tage ein. Der Zellinhalt ist gelblich.

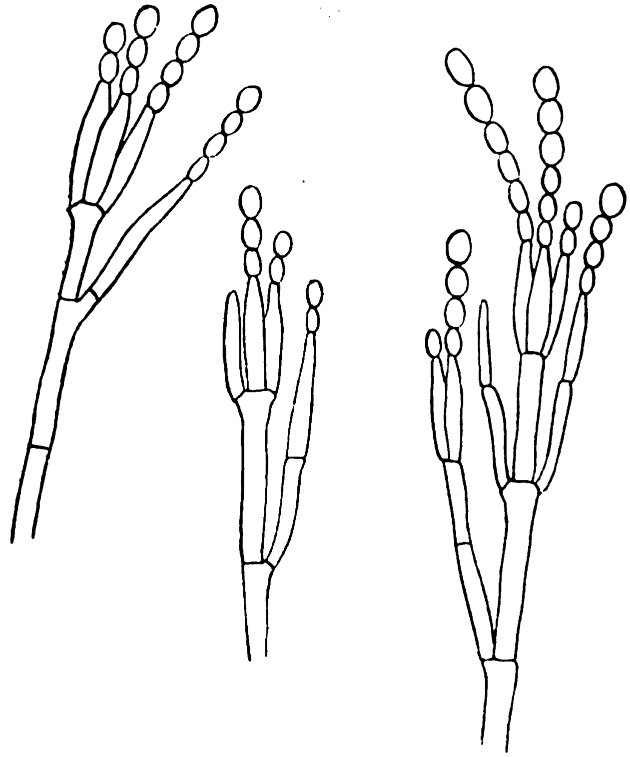


Fig. 2. Penicillium juglandis. Vergr. 840.

Physiologische Beobachtungen.

Gelatine: Auf Gelatinen wächst der Pilz sehr verschieden, stark auf Zucker- und Würzegelatine, schlecht auf gewöhnlicher. Auf letzterer breiten sich farblose Hyphen weit über das Substrat aus, so daß die Kultur ein eisblumenartiges Aussehen bekommt. Die Farbe wird bald hellgrün-grau, geht später in ein ziemlich reines Dunkelgrün, endlich in Graugrün über.

Weit verbreitet ist bei dieser Art auf der Höhe der Entwickelung eine kräftige Wasserpressung. Die klaren Tropfen finden sich auf fast allen Kulturen. Auf Zuckergelatine, Würzegelatine, wie überhaupt auf allen Substraten, auf denen der Pilz gut wächst, zeigt er noch eine andere charakteristische Eigentümlichkeit: Zwischen den grünen Polstern

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schieben sich häufig wieder weiße Köpfchen (1—2 mm im Durchmesser und ebenso hoch) hervor, koremienartige Bildungen, die in wenigen Tagen wieder grüne Konidien abschnüren, während noch neue weiße Köpfchen hervorsprossen. Die Unterseite der Gelatinekulturen wird weiß bis gelb, auch gelbrot. Zuckergelatine und alkalische Gelatine bleiben fest, Würzegelatine wird nach kurzer Zeit flüssig. Auf 6-proz. sauren gewöhnlichen Gelatinen wächst diese Art besser als auf 2-proz. alkalischen. Auf beiden ist das Wachstum nicht so intensiv, daß die weißen Köpfchen auftreten.

Kartoffel: Kartoffeln rufen äußerst kräftiges Wachstum hervor. Schon nach 2 Tagen ist das Mycel grün gefärbt. Bald wird die Farbe dunkelgrün, Wassertropfen und weiße Köpfe treten auf. Eine breite Schicht von weißen Hyphen umgibt die Wachstumsherde, bis das ganze Substrat überwuchert ist. Die Kartoffel wird nicht gefärbt.

Simonsbrot: Der Pilz wächst kräftig. Nach einigen Wochen entwickelten sich auf dem Brote zarte, seidenglänzende, wenig dichte Koremiumstielchen, gegen 5 mm hoch, die sich oben durch Konidienbildung grün färbten.

Reis: Reis wird in kurzer Zeit von einer grünen Schicht überzogen. Weiße Köpfchen treten reichlich auf. Der Reis wird schließlich etwas gelblich gefärbt. Diese Färbung ist aber viel weniger intensiv als die bei P. kiliense beobachtete.

Zitronenscheibe: Ein äußerst üppiges Wachstum mit den charakteristischen weißen Köpfchen zwischen dem Dunkelgrün.

Möhrenscheibe: Nach 2 Tagen treten auf der Scheibe hohe, dichte Hyphen strahlig auf, die sich bald von der Mitte aus bläulichgrün färben.

Traubenzuckerlösungen: I und II erweisen sich als sehr gute Nährlösungen. Schon nach 2 Tagen sind die entstandenen Inseln durch Konidienbildung grünlich gefärbt. Sie vergrößern sich schnell und zeigen ein körniges Aussehen. In einer Woche ist eine zusammenhängende Decke gebildet. Die Unterseite ist intensiv gelb gefärbt. Der Pilz ist im Gegensatz zu einigen anderen Arten nur auf der Oberfläche gewachsen. Die Kultur faltet und kräuselt sich etwas, so daß die Pilzschicht, auch noch durch die hervorsprossenden Köpfchen, mehrere Millimeter dick wird. Die Flüssigkeit färbt sich ebenso gelb wie die Unterseite. Haben sich auf der Lösung nur wenige Inseln gebildet, so tritt nach einer Woche eine starke Einkrümmung der Mycelpolster ein, so daß grüne und weiße Partieen von dem Gelb der Unterseite eingerahmt werden.

Glycerin: Hier wächst der Pilz bedeutend langsamer, aber auch normaler. Die Inseln bleiben flach, die Unterseite grau bis weißlich, die Oberseite tiefgrün. Die Lösung wird nur schwach gelb gefärbt.

Rohrzucker: Auch hier wächst der Pilz langsam, bildet aber doch noch eine gute Decke, die sich zwar manchmal blasig nach oben auftreibt, aber niemals krümmt. Die Unterseite ist gelb, ebenso die Flüssigkeit.

Asparagin: In der Lösung mit K_2HPO_4 ohne Zucker gedeiht diese Art auch nur kümmerlich, in der entsprechenden mit KH_2PO_4 dagegen besser. Nach 2 Tagen zeigt sich ein zartes Hellgrün, das nach weiteren 4 Tagen in ein Graugrün übergeht. Die immerhin nur schwache Decke ist unten eigenartig graugelblich und färbt die Lösung ebenso. In der Lösung Asparaginrohrzucker wächst der Pilz sehr gleichmäßig·

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In 2 Tagen hat sich eine rein grüne, „griesartige" Decke gebildet, aus der sogar schön weiße Köpfchen hervorschauen können. Später wird die Decke kräftiger, mehrere Millimeter dick und dunkelgrün. Die Unterseite und die Flüssigkeit wird nur wenig gelb.

Stärke: In einer Woche bildet sich eine erst graugrüne, dann reingrüne Decke, dünn und „griesartig". Weiße Partieen treten kaum auf. Die Kultur ist unten hell, die Lösung höchstens ein wenig gelb.

Pepton: Das Wachstum ist stärker als das der anderen Arten, immerhin aber nur schwach. Die Lösung wird stark gelb.

KNO_3 und $NaNO_2$: Rohrzucker + KNO_3 erweist sich als bessere Stickstoffquelle für diese Art wie für P. kiliense. In 4 Tagen hat sich eine grüne Decke gebildet, die ebenso weiter wächst wie die Lösungen I und II. Traubenzucker-KNO_3 nährt nicht so gut wie Rohrzucker-KNO_3. Auf der $NaNO_2$-Lösung bildet sich im Laufe langer Zeit nur ein wenig farbloses, staubartiges Mycel.

Saure und alkalische Substrate: Auf 6-proz. Zitronensäure zeigt sich kein Wachstum, auf 5-proz. treten gelbliche kugelige Inselchen auf, die trotz ihrer kleinen Masse die Lösung intensiv gelb färben. (Dieses Gelb ist ein wärmeres als das bei P. kiliense angegebene.) Auf 2-proz. Lösung werden zunächst oben weißliche, unten stark gelbe Polster gebildet, nach 2 Wochen oben dunkelgrün. Die Lösung wird kräftig gelb.

Auf 1 Proz. und $^1/_4$ Proz. Na_2CO_3 wächst die Art nicht. Bei 0,15 Proz. bildet sich nach $^1/_2$ Monat eine aufgetriebene hellgrüne Decke. Rohrzucker-$^1/_8$ Proz. Na_2CO_3 läßt nur ein schwaches Wachstum zu, Traubenzucker-$^1/_8$ Na_2CO_3 dagegen ein kräftigeres, das alle Eigentümlichkeiten der Art zeigt. Die Flüssigkeit wird besonders dunkelgelb gefärbt.

Oxalsäure wird in beträchtlichem Maße in den KNO_3-Lösungen, im Pepton, in der Lösung 0,15 Na_2CO_3 und Traubenzucker-$^1/_8$ Na_2CO_3 gebildet, so daß diese Lösungen nach längerer Zeit meist saure Reaktion zeigten. Dadurch hat dieser Pilz sich ein ihm zusagendes neutrales oder schwach saures Substrat geschaffen. Mit dem geschilderten Verhalten stimmt überein, daß rote Lackmusgelatine nicht alkalisch wird, blaue dagegen stark und dauernd Säuerung anzeigt.

Milch: Auf Milch verhält sich der Pilz eigenartig. Er wächst gut, bildet eine ebene Decke mit den weißen Köpfchen, zeigt aber nie Grünfärbung, sondern nur ein helles Braun. Das Kaseïn wird ziemlich schnell vollständig gelöst, während sich die Flüssigkeit stark rot färbt.

Tannin: In Rohrzuckerlösungen mit 10 und selbst 25 g Tannin vermag diese Art noch normal grün zu fruktifizieren, freilich bilden sich nur wenige kleine Inseln.

Auffallend ist bei dieser Art die Gelbfärbung der Lösung, die in ähnlicher Weise, aber doch weitaus seltener, nur bei P. kiliense auftritt; zudem ist das Gelb bei P. kiliense reiner und heller. Charakteristisch ist das starke Wachstum, besonders die häufige Bildung der weißen Koremiumköpfchen mitten zwischen dem Dunkelgrün. Der Pilz wächst durchschnittlich am kräftigsten und gleichartigsten. Seine große Widerstandsfähigkeit zeigt sich besonders in dem Fortkommen auf 25-proz. Tanninlösungen.

Daneben ist auch die Wasserpressung typisch, die freilich nicht ausschließlich bei dieser Art auftritt, aber hier doch ganz besonders kräftig und auffallend ist.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Kulturen, besonders die Gelatinen, nehmen einen stark ammoniakalischen Geruch an. Bemerkt sei schließlich noch die braune Färbung, die das Mycel auf Milch annimmt, und die rote Färbung der zersetzten Milch.

3. Penicillium musae n. sp.

Der Pilz entwickelte sich auf einer Banane (neben anderen P.-Arten) und bildete gelbbraune bis olivfarbene Polster.

Mikroskopische Untersuchung.

In Zuckergelatine wachsen die Hyphen sehr schnell und verzweigen sich reichlich. Sie sind 2,5 μ breit; ihr Inhalt ist im allgemeinen farblos. Die Konidienträger sind kräftiger: 3—3,2 μ breit. Der Träger trägt 1—2 Seitenäste, die oft auf gleicher Höhe abzweigen. Da sie in einiger Entfernung dem Hauptstamm ziemlich parallel laufen, so ähnelt der ganze Träger dann einer dreizinkigen Gabel. Die Basidien sind lang, bis 6mal so lang wie breit. In manchen Kulturen zeigten sie am oberen Ende eine kolbige Anschwellung. Auf jeder Basidie sitzen zahlreiche, 5—9, Sterigmen von gestreckter Form. Sie sind etwas unter der Mitte am dicksten, verjüngen sich nach unten wenig, nach oben mehr. An ihrer Spitze werden längliche Konidien durch Bildung einer Querwand und Abrundung abgeschnürt. Sie sind elliptisch bis fast rund, 2,2—2,8 μ lang und 2—2,3 μ breit. Aeltere und junge Konidien sind kaum verschieden.

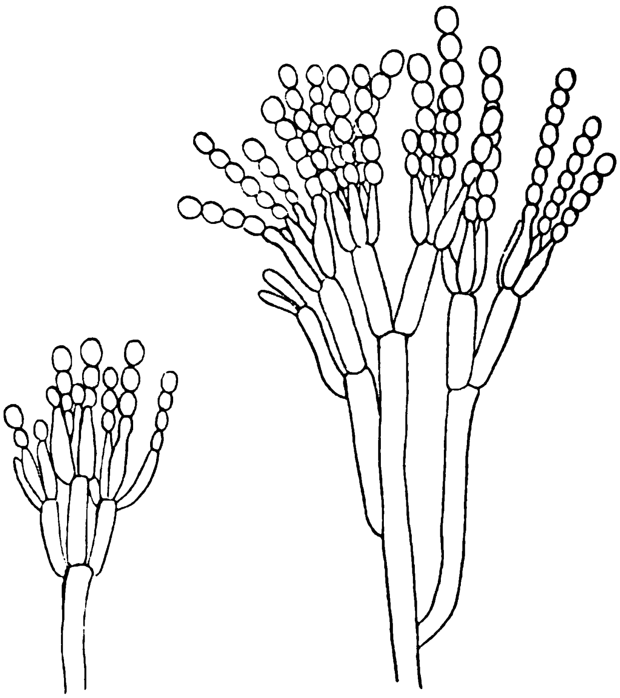


Fig. 3. Penicillium musae. Vergr. 840.

Vor der Keimung, die in Zuckergelatine nach 18 Stunden eintritt, schwellen die Konidien bis zu einer Breite von 4—5 μ an. Septierung tritt erst weit von den Enden der Hyphen ein, jedoch noch im Laufe des 2. Tages.

Die Zellen sind 30—40 μ lang. Konidienbildung beginnt am 3. Tag. Die einzelnen Konidienträger mit ihren zahlreichen Sterigmen bilden, verglichen mit allen anderen untersuchten Arten, besonders dichte Büschel, umhüllt von großen Konidienmassen. Eine Betrachtung des Trägerbaues ist deshalb erst nach sorgfältigster Präparation möglich.

Physiologische Beobachtungen.

Gelatinen: Auf Zuckergelatine und Würzegelatine entwickelt sich diese Art rasch. Am 2. Tage zeigen die Strichkulturen schon einen weißen Streifen, der am 3. Tage hell gelblich-grün wird. Schon vor der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Konidienbildung zeigt sich eine Verflüssigung aller Gelatinen, die bald vollständig ist. Die Farbe wird allmählich grüner, behält aber stets einen gelblichen Ton. Die Streifen der Strichkulturen kräuseln sich zunächst an den breiten, weißen Rändern und krümmen sich immer mehr zusammen; zugleich wird der grünliche Teil gelblich-braun, während der Rand weiß bleibt. Diese charakteristische Entwickelung vollzieht sich in 8—10 Tagen. Auf 6-proz. sauren und 2-proz. alkalischen gewöhnlichen und Zuckergelatinen verhält sich der Pilz ähnlich, zu bemerken ist nur, daß das Grün kaum mehr auftritt, sondern gleich eine bräunliche Färbung einsetzt.

Kartoffel: Das Wachstum ist zunächst langsam, nach einer Woche ist aber doch die ganze Scheibe von einer kräftigen, olivgrünen Decke überwuchert. Die Hyphen ragen hier bedeutend hoch.

Reis: Von allen Arten zeigt diese hier das üppigste Wachstum. Die ganze Oberfläche wird oliv überzogen und der Reis selbst schwach grünlich.

Zitronenscheibe, Möhrenscheibe: Der Pilz wächst gut und normal.

Simonsbrot: Nach 5—6 Wochen hatten sich reichlich Koremien gebildet, die aber ganz anders aussahen wie die von P. juglandis. Sie traten erst auf, als die kräftig überwucherten Scheiben zwischen den Deckeln einer Petri-Schale gepreßt wurden. Es zeigten sich dichte, feste, weiße Stiele, 3—4 mm lang, zum Teil dem Glase dicht anliegend, oben kopfig verbreitet. Hierauf entstanden grüne Stäbchen, die sich eigenartig fächerförmig um das Stielende anordneten (1—2 mm lang).

Traubenzucker: Auf I und II bilden sich kleine, weiße, von Anfang an stark gewölbte Inseln, die von der Mitte aus sich rein hellgrün färben. Die Unterseite ist weiß und überwuchert auch die Oberseite in ähnlicher Art, wie es bei P. kiliense beschrieben wurde. Nach einer Woche findet man wegen energischer Krümmung der Polster nur weiße Kugeln und Stäbchen auf der Lösung schwimmen. Die Flüssigkeit bleibt klar.

Glycerin: Auf Glycerin verhält sich der Pilz ebenso, nur bildet er doch zunächst flache, hellgrüne bis olivfarbene Inseln aus, die sich erst später krümmen und weiß werden.

Rohrzucker: Auf Rohrzucker wächst diese Art gut. Nach 3 bis 4 Tagen haben sich flache, dichte Polster gebildet, die dadurch stets ein charakteristisches Aussehen erhalten, daß sie zusammengesetzt scheinen aus 1—2 mm kleinen, unregelmäßigen Polygonen. Wenigstens ist der Rand selten ganzrandig oder auch unscharf, sondern mehr oder weniger unregelmäßig, eckig und gezähnt. Diese Polster sind gelblichgrün, später grün gefärbt. Die Lösung wird grünlich, die Unterseite der Kolonieen ist weiß-grünlich. Hohe Hyphen treten hier, wie überhaupt bei dieser Art, selten auf; die Decken sehen immer dicht und eben an der Oberfläche aus.

Asparagin: Auf Asparagin mit KH_2PO_4 und K_2HPO_4 wächst der Pilz verhältnismäßig gut. Es bildet sich eine flaumige, weiße Decke, die später einen gelbbräunlichen Ton annimmt. Auf Asparaginrohrzucker wächst diese Art ausgezeichnet. Schon nach 2 Tagen ist die Kultur hell gelbgrün gefärbt. Die Decke wird dichter, zeigt die gefelderte Wuchsform und wird dunkel olivgrün. Die Lösung selbst wird grünlich.

Stärke: Das Wachstum ist nur mittelmäßig. Nachdem sich zunächst

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine farblose Decke gebildet hat, zeigt sich allmählich die erwähnte gelbgrüne Felderung. Die Flüssigkeit bleibt farblos.

Pepton: Der Pilz wächst relativ gut. Es entsteht eine flaumige, graugrüne Decke.

KNO_3 und $NaNO_2$. Die schwache Decke, die sich auf KNO_3-Lösungen zeigt, ist bis zum 3. oder 4. Tage farblos, dann wird sie gelbgrün. Die Flüssigkeit wird nur wenig gefärbt. Auf $NaNO_2$-Lösung vermag sich nur ein feiner, weißgrauer Ueberzug zu bilden.

Saure und alkalische Substrate: Auf der Lösung 6-proz. Zitronensäure bilden sich höchstens weiße Kügelchen. In 5-proz. Lösung treten wenige, stark gekrümmte Inseln auf, in 2-proz. ziemlich kräftige grünweiße Polster. Die Unterseite ist weiß bis graugelb. Die Lösung bleibt klar. Auch hier tritt schließlich eine Wölbung der Kolonieen ein. 1—0,15 Proz. Na_2CO_3 vermögen kein Wachstum hervorzurufen. Auf $^1/_8$-proz. Na_2CO_3-Lösungen bilden sich Decken von hellgrüner Farbe. Die Flüssigkeit wird grünlich. Schwach alkalische Lösungen, wie die mit KNO_3, $^1/_8$-proz. Na_2CO_3, Asparaginrohrzucker, werden durch den Pilz schwach sauer. Pepton und $NaNO_2$ werden nur neutralisiert, beide zeigen aber auch geringeres Wachstum. Oxalsäure wird in nachweisbarer Menge nur bei Pepton gebildet. — Der Pilz scheint zu normaler Entwickelung ein neutrales Substrat nötig zu haben, jede stärkere Säuerung ist jedenfalls schädlich. Es ergibt sich dies aus mehreren Beobachtungen: Auf den schwach sauren Lösungen I und II und Glycerin tritt starke Krümmung der Mycelpolster ein; rote Lackmusgelatine wird sehr schnell entfärbt, unter der Kolonie sogar blau; die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß die Hyphen in 2-proz. zitronensauren und den alkalischen Lösungen anormale, kurze Zellen bilden.

Tannin: Kein Wachstum.

Milch: Es zeigt sich kräftiges Wachstum, aber verbunden mit starker Faltung der Decke. Die Farbe ist nicht einheitlich; das Kaseïn wird schnell gelöst.

Besonders charakteristisch ist für diese Art die hellgrüne Farbe (oliv), die häufige grünliche Färbung der Flüssigkeit, welche jedoch nie intensiv ist, und die dichte, gefelderte Wuchsform.

Weiße, sterile Ränder treten nur auf Gelatinen auf, hier aber sind sie typisch breit entwickelt. Auffallend ist auf Gelatinen auch die Braunfärbung und ganz besonders die schnelle vollständige Verflüssigung. Diese Art bildet wegen ihrer zahlreichen Sterigmen die dichtesten Konidienträger.

4. Penicillium italicum Wehmer.

Der Piz fand sich auf Zitronen und Apfelsinen, wo er meist als erster Schimmelpilz auftrat und bald einen kräftigen, hellblauen Ueberzug bildete.

Mikroskopische Untersuchung.

Die farblosen Hyphen sind 4,5—5 μ breit, die Zellen 30—45 μ lang, durchschnittlich 40 μ. Der mehrfach verzweigte Konidienträger bildet an jedem Zweig bis zu 4 Basidien von mittlerer Länge aus. Die 3—4 auf diesen sitzenden Sterigmen sind ziemlich schank, die untere Hälfte ist verdickt, die obere schmäler. Sie sind unten wenig abgerundet. Die Konidien werden durch Querwände abgeschnürt, ohne daß ein enger Hals gebildet wird. Die jüngsten Konidien, zunächst cylindrisch, runden sich

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu ausgeprägt elliptischen Formen ab. Die Konidien wachsen erst nach der Abschnürung zu der Länge von 2,8—3,3 μ heran. Eine doppelte Kontur der Membran ist zu beobachten. Neben stark länglichen finden sich übrigens auch annähernd runde Konidien. Sie lösen sich leicht voneinander ab. Vor der Keimung schwellen sie bis zu einer Länge von 6 μ und einer Breite von 4—5,5 μ an. Die ersten Keimschläuche beobachtete ich schon nach 15 Stunden, während Stoll Keimung erst nach der doppelten Zeit feststellte. In Zuckergelatine war Konidienbildung schon nach 50 Stunden eingetreten.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Käsefehler „kort" (kurz).

[Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Mit 1 Figur.

Wenn eine Flüssigkeit, welche die nötigen Stoffe für die Bakterienernährung enthält, mit Mikroorganismen geimpft wird, so wird, selbstverständlich bei einer passenden Temperatur, Vermehrung derselben stattfinden. Diese Vermehrung ist aber nicht unbegrenzt und hört auf, sobald es an einem der Nährstoffe durch Erschöpfung des Nährbodens mangelt, aber meistenteils infolge der Stoffwechselprodukte der Bakterien selbst. Gleichwie bei jedem lebendigen Wesen, sind auch in diesem Falle die Stoffwechselprodukte als Gift für den lebenden Organismus zu betrachten, und es entsteht also nach einer Periode der Entwickelung eine Autointoxikation, welche sozusagen eine Bremse bildet. Diese Autointoxikation steigt der Sache nach mit dem Wachstum der Bakterien und erreicht am Ende eine derartige Höhe, daß eine weitere Entwickelung ausgeschlossen ist.

Kann man in irgend einer Weise die schädlichen Stoffwechselprodukte derartig binden, daß sie in eine unschädliche Form übergeführt werden, so wird der Organismus befreit von der Hemmung, und falls in ausreichender Menge Nährstoffe anwesend sind, in eine neue Periode des Wachstums eintreten können.

Ein Beispiel für obenstehende Betrachtung liefert sterile Milch, wenn diese mit Milchsäurefermenten geimpft wird. Es tritt in diesem Falle eine Milchsäuregärung ein und infolgedessen wird der Milchzucker nach untenstehender Gleichung zersetzt:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4\ C_3H_6O_3$$

Diese Milchsäure bildet jetzt die Stoffe, welche ungünstig für das weitere Wachstum sind, und bringt dieses zum Stehen, in manchen Fällen, wenn z. B. bloß $^1/_2$ Proz. davon gebildet ist. Wird aber die Milchsäure neutralisiert mittels einer durch Säuren leicht zersetzbaren Verbindung eines Metalls, welche für Mikroorganismen unschädlich ist, so entsteht ein milchsaures Salz und es kann weitere Entwickelung eintreten. Wird dazu z. B. Kreide verwendet, so entsteht eine chemische Wirkung, ausgedrückt durch die folgende Gleichung:

$$CaCO_3 + 2\ C_3H_6O_3 = (C_3H_5O_3)_2Ca + CO_2 + H_2O$$

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Milchsäuregärung kann jetzt weiter gehen, bis abermals der maximale Säuregrad erreicht worden ist. Indem man jetzt zum zweiten Male die richtige Portion Kreide zusetzt, setzt man die Bakterien in die Lage, von neuem ihre Tätigkeit zu entfalten, und dies kann man so lange wiederholen, bis aller Milchzucker verschwunden ist. In diesem Stadium wird weitere Entwickelung unmöglich, weil es an der richtigen Kohlenstoffquelle in der Nahrung des Milchzuckers mangelt. Es versteht sich, daß man dasselbe Resultat erhält, also die vollständige Vergärung des Milchzuckers, nicht nur durch wiederholte Zusätze kleiner Portionen Kreide, sondern gleichfalls, indem man beim Anfange der Gärung schon eine Quantität Kreide zusetzt, welche die totale Menge Milchsäure zu binden im stande ist.

Außer der Kreide gibt es verschiedene andere Stoffe, welche eine ähnliche Wirkung ausüben, und unter diese kommen einige in der Milch vor, nämlich Calciumkaseinat und Calciumphosphat. Das Verhalten dieser Salze bezüglich der Milchsäure ist aber verschieden. Das Calciumkaseinat wird durch Milchsäure zersetzt, unter Bildung von Milchsäure, Calcium und freiem Kasein; dieses letztere hat zwar die Eigenschaft einer Säure, ist aber nicht wasserlöslich. Wird also zu einer Lösung von Calciumkaseinat Milchsäure hinzugesetzt, so wird eine äquivalente Menge Kasein ausfallen, während die Milchsäure neutralisiert wird. Der Säuregrad der ganzen Masse ändert sich zwar nicht, aber die kaseinfreie Flüssigkeit reagiert neutral. Hinsichtlich des löslichen Säuregrades ist das Calciumkaseinat also wie ein Neutralisationsmittel zu betrachten.

Dies ist aber nicht der Fall mit den Calciumphosphaten, insbesondere dem Tri- und dem Bicalciumphosphat. Diese werden ja durch die Milchsäure zersetzt nach den Gleichungen:

$$Ca_2H_2P_2O_8 + 2\,C_3H_6O_3 = CaH_4P_2O_8 + Ca(C_3H_5O_3)_2$$
$$Ca_3P_2O_8 + 4\,C_3H_6O_3 = CaH_4P_2O_8 + 2\,Ca(C_3H_5O_3)_2$$

In beiden Fällen entsteht also Monocalciumphosphat und milchsaures Calcium. Das Monocalciumphosphat, welches ein saueres Salz darstellt, ist aber wasserlöslich und erteilt diesem also einen gewissen Säuregrad. Durch die Einwirkung beider Salze auf Milchsäure entsteht zwar immer eine Neutralisation, aber ein Säuregrad bleibt bestehen. Für das Tricalciumphosphat ist die Säurebindung größer als für das Bicalciumphosphat, wie aus den Gleichungen deutlich hervorgeht. Während 272 g Bicalciumphosphat im stande sind, 180 g Milchsäure zu zersetzen, braucht man nur 155 g Tricalciumphosphat zur Bindung der gleichen Menge Milchsäure. Dieser große Unterschied in den Quantitäten beider Salze, welche zur Neutralisation derselben Menge Milchsäure nötig sind, erklärt die Bedeutung der Frage, in welchem Verhältnisse diese Salze vorkommen, mit Rücksicht auf die Rolle, welche sie bei der Milchsäuregärung spielen.

Um einen Einblick darüber zu bekommen, benutzten wir die verschiedenartige Löslichkeit dieser beiden Phosphate in einer ammoniakalischen Lösung von citronensaurem Ammoniak, welche in der folgenden Weise bereitet wird:

500 g Citronensäure werden gelöst in 700 ccm konzentriertem Ammoniak mit einem spezifischen Gewichte 0,92; zur Vermeidung einer zu starken Erhitzung ist es empfehlenswert, die Kristalle der Citronensäure zuvor mit Wasser zu übergießen. Man setzt so viel Wasser zu der neutralen Lösung hinzu, bis die Flüssigkeit das spezifische Gewicht 1,09 bei 15° C erreicht hat, und alsdann auf jedes Liter 50 ccm konzentrierten Ammoniak von 0,92 v. H.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In einer derartigen Flüssigkeit ist das Bicalciumphosphat recht gut löslich, das Tricalciumphosphat dagegen sehr wenig (0,024 g pro 100 ccm) und kann man damit also bestimmen, welche dieser beiden Substanzen in der größten Menge vertreten ist. Dies geschieht sehr gut in der folgenden Weise:

Frische Milch wird mittels Lab geronnen, der Bruch leicht zur Abtrennung der Molken bearbeitet und gesammelt. Durch Auswaschen mit lauem Wasser, so lange bis die Reaktion mit Fehlingscher Lösung nicht mehr eintrat, wird der Milchzucker samt den löslichen Salzen daraus entfernt. Eine bestimmte Menge dieser gut ausgepreßten Masse wird in einem Mörser mit oben genannter citronensaurer Ammoniaklösung zerrieben, bis eine sehr feine Masse entsteht. Diese wird in einen Literkolben gebracht und so viel Lösung hinzugesetzt, bis das Volumen im ganzen 1000 ccm beträgt. Man läßt jetzt dieses Gemenge 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, mitunter umschütteln und erhitzt nachher während einer Stunde auf 38—40° C im Wasserbade. Nach Abkühlung wird darauf durch eine Chamberland-Kerze unter Druckverminderung filtriert. Hierbei sei bemerkt, daß die Verwendung metallener Hülsen als Filtermantel ausgeschlossen ist, mit Rücksicht auf die Einwirkung der Lösung auf Metalle. Im Filtrat kann jetzt der Kalk und die Phosphorsäure bestimmt werden, während durch Analyse der ursprünglichen Flüssigkeit der totale kalk- und phosphorsaure Gehalt gefunden werden kann. Aus beiden Untersuchungen ist alsdann zu bestimmen, welcher Teil der totalen Kalkmenge in Lösung übergegangen ist. Weil man von einer Substanz ausgeht, welche keine wasserlöslichen Salze enthält, so versteht es sich, daß die Zahlen, erhalten durch die Untersuchung des Filtrates, unmittelbar die in Lösung gebrachten Quantitäten Calciumoxyd und Phosphorsäure angeben.

Die Analyse geschah in der üblichen Weise, vorher wurde aber immer unter Laugezusatz verascht zur Entfernung der großen Quantitäten von citronensaurem Ammoniak.

Hier folgen die in dieser Weise erhaltenen Ergebnisse in zwei Fällen:

A. 50 g ausgewaschener Bruch, angerieben mit Ammoniumcitrat und damit angefüllt bis 1 Liter.

150 ccm nicht filtriert, enthalten 0,126 g CaO;
150 ccm filtriert, enthalten 0,131 g CaO;
100 ccm filtriert, enthalten 0,069 g P_2O_5.

B. 50 g ausgewaschener Bruch, angerieben mit Ammoniumcitrat und damit angefüllt bis 1 Liter.

100 ccm nicht filtriert, enthalten 0,76 g CaO;
100 ccm filtriert, enthalten 0,75 g CaO;
100 ccm filtriert, enthalten 0,056 g P_2O_5.

Erstens geht aus diesen Zahlen deutlich hervor, daß aller vorrätige Kalk in Lösung geht. Nur ein kleiner Teil davon kann infolge der Löslichkeit des Tricalciumphosphates in citronensaurem Ammoniak von dieser Verbindung herrühren, während der übrige von anderen Stoffen entnommen sein muß. So wurde im ersten Falle $\frac{0,024}{310} \times 168 \times 1,5 =$ 0,0195 g, im zweiten Falle $\frac{0,024}{310} \times 168 = 0,013$ g CaO in Minderung gebracht und stammen eventuell von Triphosphat. Es würden alsdann erübrigen 0,1065 g und 0,062 g CaO. Hieraus geht hervor, daß, obgleich

Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

die Möglichkeit der Anwesenheit von Tricalciumphosphat in der Milch besteht, eine Möglichkeit, deren Richtigkeit durch diese Methode nicht konstatiert werden kann, weitaus die größte Menge des Calciums der Milch in einer anderen Verbindungsweise vorkommt. Wie dieselbe ist, kann seine Erklärung finden in der Quantität Phosphorsäure, welche in Lösung gegangen ist. Dafür fanden wir im Filtrat pro 100 ccm 0,069 g resp. 0,056 g. Vermindert man diese Zahlen mit den Quantitäten Phosphorsäure, welche höchstens auf Rechnung des Tricalciumphosphates geschrieben werden könnten: $\frac{0{,}024}{310} \times 142 = 0{,}011$ g, so restieren 0,058 g und 0,045 g P_2O_5, welche durch Lösen des Bicalciumphosphates erhalten wurden, welche sich beziehen auf $\frac{0{,}058}{142} \times 112 = 0{,}0457$ g CaO resp. $\frac{0{,}045}{142} \times 112 = 0{,}0355$ g Ca im Bicalciumphosphat. Zur Verfügung standen in 100 ccm nicht filtrierter Bruchlösung 0,0709 g (0,1065 g umgerechnet auf 100 ccm) und 0,062 g; es erübrigen nach Abzug des Biphosphatkalkes 0,025 g resp. 0,0265 g CaO. Diese letzten müssen vom Calciumkaseinat herrühren. Nach diesen Berechnungen, welche sich auf die Voraussetzung stützen, daß Tricalciumphosphat da ist, würden also pro 100 ccm Filtrat die folgenden Mengen Kalkverbindungen vorkommen:

0,025—0,0265 g CaO in Form von Calciumkaseinat,
0,024 g $Ca_3P_2O_8$ Tricalciumphosphat,
0,111—0,086 g $Ca_2H_2P_2O_8$ Bicalciumphosphat,

woraus hervorgeht, daß, wenn $Ca_3P_2O_8$ vorkommen würde, dieses nur einen kleinen Teil der Kalksalze bildet.

Es versteht sich, daß man andere Zahlen erhalten würde, wenn man annimmt, daß $Ca_3P_2O_8$ in der Milch nicht vorkommt; weil aber dies *nicht* nachzuweisen ist, wie oben gesagt wurde, wendeten wir diese Rechnungsweise nicht an.

Die Ursache, weshalb diese Untersuchung mit ausgewaschenem Bruche und nicht mit Milch als solcher angestellt wurde, beruht darauf, daß die löslichen Salze die Analyse unnötig umständlich machen würden (so würden auch die löslichen Phosphate und Calciumsalze für sich bestimmt werden müssen). Außerdem würden die löslichen Magnesiumsalze, nach Zusatz der ammoniakalischen citronensauren Ammoniaklösung, die in Lösung gehende Phosphorsäure teilweise wiederum gefällt haben, was natürlich Störungen mit sich brächte.

Zur Bestimmung der Menge Milchsäure, welche irgend eine Milchprobe annähernd durch die sich vorfindenden Kalksalze binden kann, sollte man also in der oben beschriebenen Weise die Beziehung zwischen Calciumkaseinat, $Ca_3P_2O_8$ und $Ca_2H_2P_2O_8$ bestimmen. Aus den gefundenen Zahlen könnte man zusammen mit dem unlöslichen Kalkgehalt der Milch die totalen Mengen berechnen. Hieraus wäre die Menge festgelegter Milchsäure abzuleiten mit Hilfe der Gleichungen, welche die Bindung jener Salze mit Milchsäure darstellen.

Der Einfluß, welchen diese Kalksalze aber auf das Gedeihen der Milchsäuregärung oder mit anderen Worten auf die Menge Milchzucker, welcher zersetzt wird, ausüben, kann aber nie beträchtlich sein, weil in der Milch der Laktosegehalt ungefähr 40—48mal so groß ist, wie die in unlöslicher Form anwesenden Kalksalze. In der Milch holländischer Kühe wurden z. B. an unlöslichem Calcium pro 100 ccm 0,1266 g, 0,1156 g und 0,108 g gefunden, während der Laktosegehalt durchschnittlich 5 Proz. beträgt. Geht man der Einfachheit halber von der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Voraussetzung aus, daß alle CaO die Milchsäure bindet (was nicht der Fall ist, wie aus Vorstehendem hervorgeht), so könnte nach folgenden Gleichungen:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4\,C_3H_6O_3$$
$$CaO + 2\,C_3H_6O_3 = H_2O + Ca(C_3H_5O_3)_2$$

in diesen 3 Fällen höchstens die nachstehende Menge Milchzucker als Milchsäure gebunden werden: $\frac{0{,}1266}{0{,}056} \times 0{,}171 = 0{,}3886$ resp. 0,353 und 0,330 g, also $^1/_{13}$—$^1/_{15}$ der totalen Menge Milchzucker.

Ist in der Milch der Einfluß der Kalksalze also unbedeutend, ein ganz anderer ist der, welchen sie bei der Käsereifung ausüben.

Bei der Gerinnung der Milch mittels Lab werden, der Sache nach, alle unlöslichen Verbindungen mit ausgefällt, und folglich treffen wir im Bruch alle diejenigen Salze an, wovon hier die Rede ist. Weil frischer Käse durchschnittlich zur Hälfte aus Bruch, zur anderen Hälfte aus Molken besteht, so gibt es darin ganz andere Verhältnisse wie in der Milch. Während in der letzteren der Milchzucker dominiert, ist es in dem ersteren gerade umgekehrt; sind es da ja die unlöslichen Kalksalze, welche vorherrschen, und zwar in hohem Grade.

Wie bekannt, entsteht in der frischen Käsemasse durch die immer vertretenen Milchsäurefermente eine intensive Milchsäuregärung, welche nur aufhört, wenn der Milchzucker vollständig verschwunden ist, weil die Milchsäure, wie aus Vorstehendem hervorgeht, nach und nach übergeführt wird in eine für die Bakterien unschädliche Calciumverbindung. Das Vorhandensein neutralisierender Substanzen im Käse ist also die Ursache, weshalb diese Gärung, welche bei der Reifung eine so hervorragende Rolle spielt, so weit durchgeführt wird und so intensiv auftritt. Daß die unlöslichen Kalksalze, oder mit anderen Worten die Zusammensetzung der Milch dabei von großer Bedeutung ist, zeigt sich auf das deutlichste.

Wenn man also in Hinsicht auf die Möglichkeit, daß die Milchsäure quantitativ gebunden werden kann, annähme, daß dies tatsächlich geschehe und also im Käse keine freie Milchsäure aufzufinden wäre, würde man zu weit gehen.

Bei jeder chemischen Umsetzung, wie hier eine vorliegt, wobei eine Säure eine andere, nicht flüchtige aus ihrer Verbindung vertreiben muß, wird die Einwirkung erst geschehen, wenn die aktive Säure, hier also die Milchsäure, in einer Quantität anwesend ist, daß ein bestimmter Säuregrad erreicht ist. Die Quantität, welche diesen Säuregehalt übersteigt, kommt für die Reaktion zur Verwendung, ist hier also an Kalk gebunden. Folglich ist im Käse also nicht nur das saure Salz $CaH_4P_2O_8$ anwesend, sondern auch freie Milchsäure, und diese beiden Verbindungen sind es, welche die saure Reaktion hervorrufen.

Die freie Milchsäure im Käse kann in einfacher Weise bestimmt werden durch Extraktion mit einer Flüssigkeit, welche dieselbe löst, z. B. Aether oder Aceton. Wir zogen das Aceton vor, weil der Aether durch Einwirkung der organischen Säure Veranlassung zur Esterbildung gibt und in dieser Weise zu falscher Analyse führen würde. Bei der Acetonverbindung muß man acht geben, daß vorher alle Feuchtigkeit entfernt worden ist; sonst bekommt man fehlerhafte Versuchsresultate. Es wurde in der folgenden Weise gehandelt: Der Probekäse wurde in einer Fleischmühle vollständig gemahlen. Nach tüchtigem Durcheinandermischen der Masse wurden 5 g abgewogen, mit etwa 13 g geglühtem

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sande angerieben und in eine Hülse aus Filtrierpapier gebracht. Diese wurde alsdann während 2 Tagen in einem Exsiccator über $CaCl_2$ getrocknet. Die Extraktion geschah am besten in einem Clauschnitzer Apparat durch Aceton, welcher über calcinierter Soda getrocknet wurde. Nach 8-stündiger Extraktion wird der Aceton abdestilliert und der Rückstand, bestehend aus Fett und Säure, mit Wasser ausgeschüttelt. Jetzt wird durch ein nasses Filter filtriert, damit das Fett zurückbleibt, und nach Auswaschen mit heißem Wasser das Filtrat mit $^1/_{10}$-normaler Lauge und Phenolphthalein titriert. Diese Zahl, umgerechnet auf Milchsäure, liefert den gewünschten Milchsäuregehalt. Mit dieser Methode ist eine Kontrolle, sei es auch eine umständliche, möglich.

Die totale, in dem Käse sich vorfindende Menge Milchzucker wird, wie schon gesagt, in Milchsäure umgesetzt. Diese Säure kommt teilweise frei, teilweise an Kalk gebunden vor. Kennt man also die ursprüngliche Menge Milchzucker und folglich die daraus bereitete Milchsäure, und weiß man, wieviel Milchsäure an Kalk gebunden ist, so geht aus der Differenz die freie Menge Milchsäure hervor. Die Laktose bestimmt man bekannterweise durch Polarisation. Etwas komplizierter ist die Bestimmung der gebundenen Milchsäure. Weil das Calciumlactat wasserlöslich ist, könnte die Zunahme des löslichen Kalkes zu der Bestimmung der gebundenen Milchsäure führen. Dies ginge wohl, wenn nur Calciumkaseinat durch die Milchsäure zerlegt würde. Die Anwesenheit des Tri- und Bicalciumphosphates bringt aber in diese Rechnungsweise eine Störung durch die Bildung des wasserlöslichen Monocalciumphosphates neben milchsaurem Calcium, wie aus den früher erwähnten Formeln hervorgeht. Ein Teil des gelösten Calciums im Käse muß also auf Rechnung des Monocalciumphosphates geschrieben werden. In welchem Maße dies der Fall ist, kann man ableiten aus der Zunahme der löslichen Phosphorsäure; diese, umgerechnet auf Monocalciumphosphat, liefert das in dieser Form gebundene CaO. Zur Bestimmung der gebundenen Milchsäure muß man also die Zunahme des wasserlöslichen Kalkgehaltes und diejenige der Phosphorsäure kennen. Die Ausführung dieser Methode ist einfach: 50 g Käse wurden mit Wasser angerieben, in einen $^1/_2$ Liter-Kolben gebracht und aufgefüllt bis 500 ccm. Nach 1-tägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur unter Schütteln wird durch ein Chamberland-Filter filtriert und in der üblichen Weise CaO und P_2O_5 bestimmt.

Untenstehend folgt der Bericht über Analysen zweier Käse nach oben beschriebener Methode:

A. Wassergehalt des 5 Tage alten Käse		41,3 Proz.
Gewicht des 5 Tage alten Käses	2080 g	
also Wasser		859 g

Der Käse wurde trocken gesalzen und der abfließende Pökel quantitativ aufgefangen:

260 ccm Pökel = 304 g mit 75 Proz. Wasser	228 g H_2O
Ursprünglich also im Käse vorhanden	1087 „ „

Die Molke enthielt pro 100 ccm 4,96 Proz. Milchzucker.

Rechnet man diese Zahl um auf den Wassergehalt der Molke (SG. 1,026 und 6 Proz. Trockensubstanz), so findet man 5,15 Proz. Milchzucker.

Im Käse waren also ursprünglich 56,0 g Laktose. Im Pökel befanden sich pro 100 ccm 0,95 Proz. Milchzucker oder 2,5 g im ganzen. Außerdem enthielt der Pökel 0,6 g Milchsäure. Im Käse blieben also zurück 52,9 Laktose, welche mit 55,9 g Milchsäure korrespondieren.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Molke enthielt weiter pro 100 ccm 0,052 CaO und 0,097 g P_2O_5. Rechnet man diese Menge gleichfalls auf den Wassergehalt der Molke um, so bekommt man darin pro 100 g Wasser 0,054 g CaO und 0,100 g P_2O_5.

50 g Käse enthalten	0,400	g lösliches CaO
Ursprünglich anwesend	0,013	„ „ „
Löslich geworden	0,387	„ CaO
50 g Käse enthalten	0,262	„ lösliche Phosphorsäure
Ursprünglich anwesend	0,029	„ „ „
Löslich geworden	0,233	„ Phosphorsäure

Uebereinstimmend mit 0,092 g Calciumoxyd in Form von Monocalciumphosphat.

Durch Milchsäure ist also in Lösung übergeführt 0,387—0,092 g = 0,295 g CaO pro 50 g Käse, d. i. pro Käse 41,6 × 0,295 g = 12,27 g CaO, korrespondierend mit 40,4 g Milchsäure.

Die Acetonextraktion lieferte pro 5 g dieses Käses 4,7 ccm $^1/_{10}$-Normalsäure oder 0,0423 g. Die im ganzen Käse anwesende freie Säure betrug also 17,6 g und die totale Milchsäuremenge im Käse 39,6 + 17,6 = 57,2 g. Die im Anfang anwesende Menge Milchzucker konnte 55,9 g Milchsäure liefern, also ein Unterschied von 1,3 g pro Käse à 2080 g = 0,06 Proz.

B. Wassergehalt eines 5 Tage alten Käses 45,4 Proz.

Gewicht dieses 5 Tage alten Käses 2062 g	
also Wasser	936 g
155 ccm Pökel = 163 g mit 77 Proz. H_2O	125 „
Ursprünglich im Käse anwesend	1061 g H_2O

Die Molke enthält 5,33 Proz. Milchzucker in ihrem Wassergehalt,

also war im Käse ursprünglich enthalten	56,6 g Laktose.
Der Pökel enthält in 150 ccm	1,8 „ „
Im Käse zurückgeblieben	54,8 g
welche, in Milchsäure umgesetzt, liefern kann	57,8 g
50 g Käse enthalten lösliche CaO	0,346 g
Ursprünglich darin vorhanden	0,014 „
In Lösung gegangen	0,332 g CaO
50 g Käse enthalten lösliche Phosphorsäure	0,209 g
Ursprünglich darin anwesend	0,024 „
In Lösung gegangen	0,185 g

Diese Menge Phosphorsäure stimmt überein mit 0,073 g CaO in Form von Monocalciumphosphat. Pro 50 g Käse ist also ausschließlich durch Milchsäure in Lösung übergegangen 0,332 — 0,073 = 0,259 g CaO; d. i. für den ganzen Käse 41,2 × 0,259 = 10,67 g CaO, übereinstimmend mit 34,3 g Milchsäure. Mit Aceton extrahiert lieferte der Käse 6,2 ccm $^1/_{10}$-Normalsäure pro 5 g = 0,056 g. Die totale Menge freier Milchsäure betrug also 23,1 g und die ganze Quantität gebildeter Milchsäure 23,1 + 34,3 = 57,4 g. Die ursprünglich anwesende Menge Milchzucker konnte 57,8 g liefern. Es wurde also ein Unterschied von 0,4 g oder pro Käse 0,02 Proz. gefunden.

(Schluß folgt.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces.

Von **Walther Krieg**, Bern.

Mit 1 Abbildung.

Die nachstehend beschriebenen Versuche wurden in den Sommerhalbjahren 1905 und 1906, sowie im Frühjahr 1907 im botanischen Institut der Universität Bern auf Anregung von Herrn Professor Dr. Ed. Fischer ausgeführt. Für die Leitung meiner Arbeit und für die vielfachen Anregungen bin ich meinem verehrten Lehrer zu großem Danke verpflichtet.

A. Einleitung.

Soviel mir bekannt, datiert das erstmalige Studium der biologischen Verhältnisse von Ranunculus-Arten bewohnenden Aecidien etwa 30 Jahre zurück und ist verknüpft mit dem Namen des hervorragenden schlesischen Pilzforschers J. Schroeter (11). Später hat sich mit dieser Frage vor allem Plowright (9) beschäftigt, dessen bezüglichen Kulturversuche in die Jahre 1882—1884 fallen. Nachher scheint in der Erforschung dieser Gruppe von heterözischen Uredineen ein längerer Stillstand eingetreten zu sein. Erst in neuester Zeit wurde der Sache vermehrte Aufmerksamkeit geschenkt. Es liegen jetzt zahlreiche Versuche vor, deren Ergebnisse aber mancherlei Widersprüche zu enthalten scheinen. Daher stellte ich mir die Aufgabe, durch eigene Versuche die bisher ausgeführten Experimente auf ihre Richtigkeit zu prüfen, zweitens allfällig neue Beziehungen zwischen Aecidien und Teleutosporenformen aufzufinden, deren Zusammengehörigkeit noch nicht erwiesen war, und endlich die Spezialisation aller mir zugänglichen auf Ranunculus-Arten lebenden Uromyces zu untersuchen. Diese letzte Aufgabe scheint mir von allen die wichtigste zu sein, da ihre Lösung es ermöglicht, der Frage nach der Entstehung von Arten näherzutreten, sind doch von vielen Forschern die spezialisierten Formen als „biologische Arten“ bezeichnet worden, die als werdende morphologische Arten aufgefaßt werden müssen.

Wie aus dem Titel meiner beiden vorläufigen Mitteilungen hervorgeht (7 und 8), hatte ich ursprünglich die Absicht, mit sämtlichen mir zu Gebote stehenden Ranunculaceen bewohnenden Aecidien zu experimentieren. Auf den Rat des Herrn Professor Ed. Fischer beschränkte ich mich dann im Interesse größerer Einheitlichkeit auf die Ranunculus- und Ficaria-Arten bewohnenden Uromyces-Formen. Es sind deshalb in der vorliegenden Arbeit die Resultate der Infektionsversuche mit Puccinia Magnusiana, Aecidium Calthae (zu Pucc. Zopfii) und Aecidium punctatum (zu Pucc. Pruni-spinosae), die zum Teil in meinen vorläufigen Mitteilungen angeführt sind, weggelassen worden.

Im Interesse größerer Uebersichtlichkeit schien es mir geboten, meine eigenen Versuche und die der anderen Autoren in einem besonderen Abschnitt zusammenzustellen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Allgemeines.

Das Aecidienmaterial, das bei diesen Versuchen verwendet wurde, habe ich zum Teil selber auf zahlreichen Exkursionen im Sommer und Herbst 1905 und 1906 gesammelt, teils ist es mir, meist durch Vermittelung des Herrn Professor Ed. Fischer, von den nachbezeichneten Herren zugeschickt worden, wofür ich ihnen an dieser Stelle verbindlichst danke: Herrn D. Cruchet, Pfarrer in Montagny bei Yverdon; Herrn Eugène Mayor, Arzt in Neuenburg; Herrn W. Rytz, cand. phil. in Bern; Herrn Dr. A. Volkart in Zürich; Herrn Hasler, cand. phil. in Muri (Kt. Aargau); Herrn Dr. O. Semadeni in Poschiavo (Kt. Graubünden). Das Teleutosporenmaterial wurde teils aus Aecidien herangezogen, teils von mir im Freien an Orten gesammelt, von denen ich früher Aecidien bezogen hatte, so daß seine Zusammengehörigkeit mit dem betreffenden, eine Ranunculus-Art bewohnenden Aecidium vermutet werden konnte. Aus unbekannten Ursachen schlugen leider fast sämtliche im Früjahr 1906 mit Teleutosporen vom vorausgegangenen Herbst gemachten Versuche fehl, obschon mir reichliches Material zur Verfügung stand, das im Aussehen nichts zu wünschen übrig ließ. Das Pilzmaterial war in Tuchsäckchen im Freien überwintert worden und wurde jeweilen vor der Infektion einige Stunden im Wasser aufgeweicht. Meine Vermutung, daß ein allfällig begangener Fehler wohl in erster Linie in der Art der Ueberwinterung der Teleutosporen gesucht werden müsse, hat sich bestätigt, indem sich herausstellte, daß von dem im Herbst 1906 gesammelten Teleutosporenmaterial, das im Früjahr 1907 zu neuen Infektionsversuchen dienen sollte, nur der auf folgende Weise überwinterte Teil starke Infektionen verursachte, während die Infektionsversuche mit in Säckchen aufbewahrten Teleutosporen wiederum beinahe gänzlich fehlschlugen (vergl. darüber die bezüglichen Infektionsversuche): Die Teleutosporen tragenden Dactylis-Blätter wurden teils mit etwas Laub bedeckt in leeren Blumentöpfen ins Freie gestellt, teils auf Kistchen aufgelegt (die natürlich draußen standen), die mit Versuchspflanzen in bestimmter Auswahl bepflanzt waren, um möglichst die Bedingungen, wie sie in der Natur gegeben sind, nachzuahmen. Diese Kistchenversuche, sowie die Infektionsversuche mit Sporen, die in Töpfen überwintert worden waren, gelangen sämtlich aufs beste. Vermutlich versagten die übrigen Infektionsversuche deshalb, weil bei der Ueberwinterung in Säckchen die Sporen zu stark austrockneten. — Ich will noch bemerken, daß im Herbst 1905 das Teleutosporenmaterial ziemlich früh (anfangs August und September) gesammelt wurde; im verflossenen Herbst dagegen erntete ich die Teleutosporen tragenden Blätter erst um die Mitte Oktober.

Die Versuchspflanzen stammten aus folgenden Bezugsquellen:

Ranunculus glacialis und rutaefolius (beide in Setzlingen) von Sündermann (Lindau). Alle übrigen Ranunculus-Arten holte ich selbst an ihren natürlichen Standorten und topfte sie ein, nämlich Ran. alpestris, silvaticus, aconitifolius im Kiental (Berner-Alpen), Ran. aconitifolius in einigen Exemplaren auch bei Enggistein (bernisches Mittelland), Ran. platanifolius im Berner- und Neuenburger-Jura, Ran. acer, auricomus, repens, bulbosus, einige Exemplare Ran. lanuginosus (die meisten wurden aus Samen gezogen), sowie Ficaria verna in der Umgebung Berns.

Rumex obtusifolius, crispus, hydrolapathum stammten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aus dem botanischen Garten in Lyon, Rumex Acetosa aus der Schweiz. Samenuntersuchungsanstalt in Zürich, Rumex alpinus aus dem botanischen Garten in Karlsruhe (alle in Samen). Ein Teil der Rumex Acetosa und obtusifolius stammte aus der Umgebung von Bern, woher auch die sämtlichen Rumex Acetosella waren geholt worden. — Die meisten Gräser kamen aus der Schweiz. Samenuntersuchungsanstalt in Zürich, nämlich Dactylis glomerata, Poa pratensis, nemoralis, trivialis, violacea, compressa, palustris (alle in Samen, zum Teil auch als Setzlinge); Poa alpina, var. fructifera und var. vivipara, bulbosa, fertilis ausschließlich als Setzlinge. Die übrigen aus anderen Bezugsquellen stammenden Gräser waren Sämlinge: Poa sudetica und caesia aus München, Poa alpina aus Dublany, Poa cenisia aus Göttingen, Festuca Halleri aus Kew (botanische Gärten). Einige der angeführten Gräser waren nebstdem von mir im Freien geholt worden. Von dorther stammte auch Poa annua.

Im Sommer 1905 verwendete ich anfangs teils von mir selbst in der Umgebung Berns ausgegrabene, teils aus der Schweiz. Samenuntersuchungsanstalt in Zürich stammende Grassetzlinge. Auch die wenigen für die Infektion mit Aecidium Ficariae benutzten Rumex-Arten stammten aus dem Freien.

Diesem Umstande sind die in jener Zeit vorgekommenen Fremdinfektionen zuzuschreiben, von denen die Ergebnisse oft beeinträchtigt wurden; dies gilt namentlich für die Versuche mit Gräsern, die ja Wirtspflanzen sehr zahlreicher und verbreiteter Uredineen repräsentieren und daher, wenn aus dem Freien entnommen, niemals mit Sicherheit als gesund taxiert werden dürfen.

Aber auch Rumex erwies sich als infiziert, wie die damaligen Versuche mit Aecidium Ficariae beweisen. Darum wurden später, wenn immer möglich, nur noch Sämlinge verwendet.

Ein weiterer Uebelstand beim Verpflanzen besteht darin, daß empfindliche Arten leicht Schaden nehmen, besonders noch, wenn sie unter ungünstige Lebensbedingungen geraten, wie es in der ersten Zeit nach erfolgter künstlicher Infektion wohl stets der Fall ist, während der die Versuchspflanzen, um den Pilzsporen günstige Keimungsbedingungen zu schaffen und um gleichzeitig Fremdinfektionen zu verhindern, unter feuchtgehaltene Glasglocken gestellt werden. Unter diesen Verhältnissen litten von meinen Versuchspflanzen am meisten einige Ranunculus-Arten, vor allem Ran. bulbosus und auricomus. Zudem wurde mit Vorliebe gerade Ran. bulbosus, etwas weniger acer, repens, silvaticus u. a., von Blattläusen heimgesucht.

Bei der Auswahl der Versuchspflanzen wurde natürlich stets ein bestimmter Plan befolgt, von dem unter dem Zwang der Verhältnisse aber häufig abgewichen werden mußte. Nicht nur in der ersten Zeit, sondern zuweilen auch später, machte sich ein Mangel an den gewünschten Versuchspflanzen fühlbar. Für eine befriedigende Lösung der Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit, nämlich für die genaue Feststellung der Spezialisation, ist aber gerade das Vorhandensein aller etwa in Betracht kommenden Species unerläßlich. Dank dem äußerst bereitwilligen Entgegenkommen der Schweiz. Samenuntersuchungsanstalt, wofür ich ihr sehr zu Dank verpflichtet bin, standen mir in manchen Fällen genügend und geeignete Versuchspflanzen zu Gebote.

Es bleibt mir zum Schluß noch übrig, Herrn Obergärtner Schenk

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und seinen Gehilfen für die Pflege der vielen Versuchspflanzen herzlich zu danken.

B. Eigene Infektionsversuche.

1. Aecidium Ficariae Pers.

Die im Sommer 1905 mit Aecidium Ficariae ausgeführten Versuche sind im folgenden nur summarisch beschrieben, weil mir nur ungenügendes Material an Versuchspflanzen zur Verfügung gestanden hat und deshalb die Ergebnisse kein abschließendes Urteil gestatteten. Erst die im darauffolgenden Sommerhalbjahr mit genügend und unzweifelhaft gesunden Versuchspflanzen durchgeführten Infektionsversuche vermochten die biologischen Verhältnisse dieses Aecidium aus dem bernischen Mittel- und Hochlande klarzustellen (8).

a) Infektionsversuche mit Aecidio- und Uredosporen.

Im Sommer 1905 ausgeführte Versuche.

Das zur Infektion von 5 Versuchsreihen benutzte Aecidienmaterial war von verschiedenster Herkunft.

Reihe I [Infektion am 27. April. Infektionsmaterial aus der Umgebung Berns. Versuchspflanzen: 4 Exemplare Rumex Acetosa aus dem botanischen Garten Bern.] ergab keinen Erfolg.

Reihe II [Datum der Versuchseinleitung: 3. Mai. Aecidium aus der Umgebung Genfs von Herrn Mayor. Versuchspflanzen: Rumex Acetosa, Acetosella, obtusifolius, alle aus dem Freien stammend; Poa annua, alpina, pratensis.] ergab nach 21 Tagen auf Rumex Acetosa einen schwachen Erfolg (wohl Fremdinfektion!).

Reihe III [Infektion am 12. Mai. Aecidium von Herrn Cruchet in Montagny; Versuchspflanzen: Rumex Acetosa, Acetosella, obtusifolius; Poa nemoralis]. Resultat: kein Infektionserfolg, obschon zahlreiche Aecidiosporen auf dem Objektträger Keimschläuche gebildet hatten.

Reihe IV [Infektion am 2. Juni. Infektionsmaterial zwischen Toffen und Niedermuhlern gesammelt. Versuchspflanzen: Poa nemoralis, alpina var. fructifera, fertilis, trivialis, pratensis — sämtliche Setzlinge aus Zürich —; Rumex Acetosa, Acetosella, obtusifolius aus der Umgebung Berns]. Probe auf dem Objektträger gekeimt! — Auf Rumex Acetosa wurden schon nach 8 Tagen wenige Uredo-Lager gefunden. P. trivialis wies 13 Tage nach der Infektion auf mehreren Blättern reichlich Uredo auf. Die mikroskopische Untersuchung vom 10. August stellte auf P. trivialis das Vorhandensein von Teleutosporen vom Typus des Uromyces Poae fest, während Rumex Acetosa auch später stets nur Uredo besaß.

Reihe V [Infektion am 6. Juni. Infektionsmaterial aus dem Kiental — von Herrn Rytz —. Versuchspflanzen: Poa nemoralis, trivialis, pratensis (sämtliche Setzlinge aus Zürich); die drei obengenannten Rumex-Arten aus der Umgebung von Bern.] Objektträgerprobe mit zahlreichen Keimschläuchen.

Nach 14 Tagen wies Rum. Acetosa auf mehreren älteren Blättern Uredo auf; die Unterseite eines Blattes war lokal sehr dicht mit Uredo-Lagern besetzt. Später (30 Tage nach der In-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fektion) war Poa trivialis mittelstark infiziert; nach einiger Zeit hatte sich die Infektion bedeutend verstärkt. Eine Probe vom 10. August besaß Teleutosporen vom Typus des Urom. Poae.

Reihe VI. Eine mit Uredo auf Poa trivialis aus der Umgebung Berns (Standort eines Aecidium Ficariae) am 26. Mai infizierte Reihe, bestehend aus 9 Poa-Arten und aus Dactylis, zeigte nach 12 Tagen einen Infektionserfolg auf Poa trivialis. Später war die Infektion sehr stark, und die am 28. Juli untersuchte Probe wies Teleutosporen vom Typus des Urom. Poae auf. Freilich trat auch auf anderen Poa-Arten, z. B. auf Poa alpina, pratensis und nemoralis, Uredoentwickelung auf. Das erste Auftreten war aber stets lokal und die Inkubationszeit sehr ungleich lang. Dafür, daß wir es dabei tatsächlich mit Fremdinfektionen zu tun hatten, sprechen noch folgende Gründe: a) Unter einer Sendung von Poa-Setzlingen aus Zürich befanden sich einzelne infizierte Exemplare von Poa nemoralis. b) Die Uredo auf Poa trivialis war stets orangefarben, die auf den übrigen infizierten Poa-Arten braun, teilweise mit Paraphysen, gehörte also nicht der gleichen Art an. Teleutosporen wurden bis zum Eingehen der Versuchspflanzen nicht gefunden.

Nach den Ergebnissen des Sommers 1905 konnten demnach als Nährpflanzen der Uredo- und Teleutosporengeneration des von mir benutzten Aecidium Ficariae nur in Frage kommen Rumex Acetosa und Poa trivialis.

Die nachstehend beschriebenen Kulturversuche vom Sommer 1906 brachten eine endgültige Lösung dieser Frage.

Im Sommerhalbjahr 1906 ausgeführte Versuche.

Versuchsreihe VII.

Als Infektionsmaterial diente Aecidium Ficariae aus der Schoßhalde (Waldeck) bei Bern, gesammelt am 10. Mai 1906. Der von Herrn Professor Ed. Fischer aufgefundene Standort dieses Aecidium ist derart beschaffen, daß eine Infektion von Ficaria durch Teleutosporen des Uromyces Rumicis zum mindesten unwahrscheinlich ist.

Der Platz, auf dem der Pilz sich fand, stellt ein Rasenband dar, das den südlichen Rand einer genau westöstlich laufenden Landstraße ein Stück weit begrenzt. Zwischen diesem Rasenstück und dem südlich sich anschließenden Wiesland steht eine breite dichte Grünhecke aus Weißdorn, mit Liguster und Rubus, die dem Hin- und Zurückfliegen von Pilzsporen ein jedenfalls nicht unbedeutendes Hindernis bietet. Es kommt als weiterer einer gegenseitigen Infektion der Ficaria- und Rumex-Pflanzen hinderlicher Faktor hinzu das Vorherrschen von Ost- und Westwinden in unseren Breiten, was zur Folge hat, daß ein Sporentransport hauptsächlich längs der Hecke, weniger durch diese hindurch, stattfindet. Da zudem eine ungestörte Entwickelung von Rostpilzen in Wiesland infolge mehrmaligen Mähens ausgeschlossen erscheint, so wäre schon aus diesem Grunde die Existenz von Uromyces Rumicis in der an den Standort des Aecidium Ficariae angrenzenden Wiese, die Rumex enthält, unmöglich. Daß in der Tat als Wirtspflanze der Teleutosporenform von Aecidium Ficariae nicht Rumex in Betracht kommt, zeigte folgender Umstand:

Beim Sammeln des Aecidium trug ich die genau abgemessenen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stellen stärkster Infektion in einen Plan ein und markierte sie außerdem noch. Als ich später den Standort besuchte, fand ich an genau denselben Stellen starke Uredo-Entwickelung auf Poa trivialis, welches Gras an diesem Standort vorherrschte und die verwelkenden Ficaria-Blätter vollständig umhüllte. Diese Beobachtung an dem natürlichen Standort des Pilzes mit den nachfolgend beschriebenen Kulturversuchen schließen die Möglichkeit der Zusammengehörigkeit des Aecidium Ficariae und des Urom. Rumicis aus.

Die in Wasser suspendierten Aecidiosporen wurden am 10. Mai 1906 auf folgende Versuchspflanzen verteilt: a) Sämlinge: Rumex crispus, alpinus, hydrolapathum, Acetosa, obtusifolius; Poa pratensis, nemoralis, trivialis. b) Setzlinge: Poa bulbosa, violacea, palustris, pratensis, Dactylis glomerata.

28. Mai. Poa trivialis und palustris tragen reichlich junge orangefarbige Uredo-Lager, die sehr gut auf die meisten Blätter verteilt sind.

12. Juni. Poa trivialis und palustris sehr reichlich Uredo. Die übrigen Versuchspflanzen vollkommen pilzfrei.

14. Juni. Neben der Uredo die ersten Teleutosporen vom Typus des Uromyces Poae vorhanden. Auch am Standort des Aecidium Ficariae an der Schoßhalde zahlreiche Teleutosporen vom selben Typus gefunden.

21. Juni. Nachdem am 14. Juni die Uredo tragenden Blätter von Poa trivialis und palustris zur Einleitung einer neuen Versuchsreihe (siehe Versuchsreihe X) weggeschnitten worden waren, nahm ich am 15. Juni zum Zwecke der Vermehrung der Uredo eine neue Infektion der beiden genannten Nährpflanzen vor und bestäubte zugleich noch Poa pratensis und nemoralis. Als Infektionsmaterial dienten wiederum Aecidiosporen vom oben genannten Standort, gesammelt am 14. Juni. Nach 7 Tagen fand sich wiederum bloß auf Poa trivialis und palustris ziemlich reichlich junge Uredo.

Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung der Uredo auf Poa trivialis und palustris: Sporenmembran blaßgelb (fast farblos), Inhalt intensiv orangefarbig. Keimporen sehr undeutlich, 5(?). Stacheln der Exine dicht stehend. Lager ohne Paraphysen.

Versuchsreihe VIII.

Infektion am 14. Mai 1906 mit Aecidium Ficariae von der Schoßhalde. Versuchspflanzen (Setzlinge): Poa pratensis, alpina var. fructifera, violacea, compressa, fertilis.

28. Mai. Kein Infektionserfolg. Poa pratensis auf zwei älteren Blättern einige Uredo-Lager, die sich bis zum 12. Juni wenig vermehrten. Die Untersuchung stellte Fremdinfektion fest, herrührend von einer im gleichen Gewächshaus untergebrachten anderweitigen Versuchsreihe, bei welcher Poa alpina und Holcus lanatus reichlich übereinstimmende Uredosporen trugen (Uredo-Lager braun, mit Paraphysen!).

Versuchsreihe IX.

Infektion am 30. Mai 1906 mit Uredo auf Poa trivialis vom Standort des Aecidium Ficariae in der Schoßhalde. Die Stellen stärkster Infektion stimmten genau mit denjenigen überein, die das Aecidium in bester Entwickelung aufwiesen. Unter der Uredo fanden

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich spärlich Teleutosporen. Vereinzelte Ficaria-Blätter trugen noch vertrocknete Aecidien. Versuchspflanzen: a) Sämlinge: Poa trivialis, nemoralis, violacea, sudetica, Rumex Acetosa. b) Gräser, die im letzten Sommer ausgesät worden waren: Poa pratensis, trivialis, violacea, bulbosa, palustris, compressa, alpina, fertilis, Dactylis glomerata.

12. Juni. Uredo auf beiden Poa trivialis, sowie auf Poa palustris. Die Kontrolle am 21. Juni und am 3. Juli ergab das gleiche Resultat, nur waren am 3. Juli auch zahlreiche Teleutosporen vorhanden.

Versuchsreihe X.

Infektion am 14. und 15. Juni 1906 mit den in VII erhaltenen Uredosporen, sowie mit Material von der Schoßhalde. Die Infektion sollte hauptsächlich zur Vermehrung des Pilzes dienen. Versuchspflanzen: a) Sämlinge: Mehrere Töpfe mit Poa trivialis, je 1 Dactylis glomerata, Poa nemoralis, sudetica. b) Setzlinge: Mehrere Poa trivialis, je 1 Dactylis glomerata und Poa pratensis.

25. Juni. Poa trivialis (insbesondere zwei Sämlinge) sehr reichlich Uredo. An den übrigen vier P. trivialis die Lager noch unaufgebrochen, kaum sichtbar.

3. Juli. Alle Poa trivialis, einige sehr reichlich, Uredo; die übrigen Versuchspflanzen vollständig gesund.

Ergebnis der Versuchsreihen VII—X, sowie der Reiheu IV—VI vom Sommer 1905: Ein Aecidium Ficariae in der Umgebung Berns und im Kiental gehört zu Uromyces Poae Rabh. und stellt eine biologische Rasse dar, deren Uredo- und Teleutosporenform nur auf Poa trivialis und palustris wächst.

b) Infektionsversuche mit Teleutosporen.

Die im folgenden beschriebenen zwei Infektionsversuche wurden im Sommer 1906 eingeleitet. Es wurden zu dem Zwecke Ende Juli in zwei Kistchen mehrere Ranunculus-Arten eingepflanzt und dazwischen Ficaria-Knollen gesteckt. In die noch unbepflanzten Stellen setzte ich Stauden von Poa trivialis und palustris ein, die zu den im gleichen Sommer vorgenommenen Infektionsversuchen mit Aecidium Ficariae von der Schoßhalde bei Bern verwendet worden waren (vergl. Versuchsreihen VII, IX und X) und reichlich Uredo- und Teleutosporen trugen. In die noch übrig bleibenden Töpfe mit Poa trivialis aus den genannten Versuchsreihen, die zum Teil Uredo- und Teleutosporen vom Typus des Uromyces Poae in bedeutender Menge enthielten, pflanzte ich bloß Ficaria-Knollen ein. Diese Knollen entwickelten sich aber im nächsten Frühjahr nicht, weshalb von den Topfversuchen weiter nicht die Rede sein wird. Die Kisten nebst den Töpfen wurden ins Freie gestellt und ohne jeden Schutz überwintert. Ich will diese sowie auch später zu besprechende Kistchenversuche einfach fortlaufend numerieren.

Versuchsreihe XI.

Ende Juli 1906 war die Kiste bepflanzt worden mit Knöllchen von Ficaria verna, mit Ran. auricomus und mit Uredo- und Teleutosporen tragenden Poa trivialis und palustris aus den Versuchs-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reihen VII, IX, X. Am 10. Oktober 1906 fügte ich den genannten Versuchspflanzen noch bei Ran. lanuginosus und repens.

12. April 1907. Viele Exemplare von Ficaria mit zahlreichen Pykniden. Ran. auricomus, lanuginosus und repens pilzfrei. Die Grasbüsche waren ganz dürr.

13. April. Fast sämtliche Blattspreiten, sowie viele Blattstiele von Ficaria mit Pykniden besetzt.

16. April. Infektion verstärkt.

20. April. Sehr zahlreiche Pykniden auf Blattober- und Unterseite, sowie an den Blattstielen.

23. April. Nebst Pykniden zahlreiche geschlossene und einige geöffnete Aecidien.

26. April. Immer noch viele Pykniden, daneben eine große Zahl offener Aecidien.

6. Mai. Ficaria noch immer stark von Aecidien befallen, die anderen Versuchspflanzen vollkommen gesund.

11. Mai. Die meisten Aecidien vertrocknet.

Versuchsreihe XII.

In das Kistchen waren Ende Juli 1906 eingesetzt worden: Ficaria-Knollen, Ran. acer und repens, dazu Poa trivialis aus oben bezeichneten Versuchsreihen, besetzt mit Uredo- und Teleutosporen vom Typus des Uromyces Poae. Die Kontrolltage stimmen mit den unter Reihe XI angegebenen vollständig überein, ebenso die jeweiligen Befunde, so daß ich von deren Wiedergabe absehen kann. Ich will nur hervorheben, daß am Tage des Erscheinens der Pykniden auf Ficaria die übrigen Versuchspflanzen ebenfalls vorhanden waren, und daß sie bis zum Schlusse meiner Kontrollen durchaus gesund blieben.

Daß wir es in beiden Reihen nicht etwa mit Fremdinfektionen zu tun haben, beweist außer der äußerst starken Infektion, die nur aus nächster Nähe erfolgen konnte, der Umstand, daß Ficaria in benachbarten Versuchsreihen (in Kistchenversuchen mit Urom. Dactylidis aus dem Berner-Jura, zum Aecidium auf Ran. platanifolius gehörend; diese Kistchen waren im gleichen Teil des Gartens untergebracht, wie die Reihen XI und XII und wurden von ihnen erst am 13. April völlig isoliert), sowie die Ficaria-Beete des botanischen Gartens keine Spur einer Infektion aufwiesen.

Die Versuchsreihen XI und XII in Verbindung mit den früher besprochenen Infektionsversuchen mit Aecidiosporen stellen demnach mit aller nur wünschbaren Klarheit fest, daß das untersuchte Aecidium Ficariae aus der Umgebung von Bern in den Entwickelungskreis eines Uromyces vom Typus des Uromyces Poae Rabh. gehört, der die Uredo- und Teleutosporenform auf Poa trivialis und palustris entwickelt, und nicht identisch ist mit den Aecidien auf Ranunculus auricomus, lanuginosus, repens, acer.

2. Aecidium auf Ranunculus platanifolius.

Ueber die Zugehörigkeit dieses Aecidium war bisher nichts bekannt. Nach Analogie mit vielen anderen Ranunculus-Arten bewohnenden Aecidien war zu vermuten, daß das Aecidium auf Ran. platanifolius auf einer Poa-Art oder auf Dactylis sich weiter

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entwickelt. Diese Vermutung hat sich denn auch bestätigt (vergl. meine vorläufige Mitteilung vom Jahre 1905).

a) Infektionsversuche mit Aecidio- und Uredosporen.

Versuchsreihe XIII.

Als Ausgangspunkt für die Untersuchung dieses Aecidium diente Infektionsmaterial auf Ran. platanifolius, das mir Herr cand. phil. Hasler von einer Exkursion in den Berner-Jura vom Südabhang des Chasseral am 25. Juni 1905 mitgebracht hatte. Die Aecidiosporen wurden am 26. und 27. Juni auf folgende Versuchspflanzen verteilt: a) Sämlinge: Dactylis glomerata, Poa nemoralis. b) Setzlinge: Poa violacea, alpina, alpina v. vivipara, pratensis, sudetica, fertilis, compressa, bulbosa, annua, Dactylis glomerata.

6. Juli. Dactylis glomerata (Sämling) reichlich Uredo.

18. Juli. Dactylis (vorjähriges Exemplar) auf einem jungen Blatt zwei schwach entwickelte Lager; mehrere Blätter zeigen kleine helle Fleckchen, die sich später bräunlich verfärben, ohne daß Lager auftreten. Der Sämling dagegen besitzt sehr zahlreiche und gut verteilte Uredo-Lager. Die anderen Versuchspflanzen zeigen keine Spur einer Infektion. — Die am 27. Juli dem Dactylis-Sämling entnommene Probe enthielt nebst Uredo Teleutosporen vom Typus des Uromyces Dactylidis, ebenso Dactylis-Stauden, die ich am 10. Juli aus dem Bezirk mitgebracht hatte, aus dem das Aecidium stammte.

Auch auf einer am 15. und 16. Juli 1905 mit Herrn Prof. Ed. Fischer in den Neuenburger-Jura unternommenen Exkursion fand ich mehrfach, so z. B. auf der Côte du Cerf, Dactylis in der Nähe von Aecidien tragenden Ran. platanifolius mit Uredo- und Teleutosporen vom selben Typus, wie das im Versuch erhaltene Sporenmaterial.

Ein Infektionsversuch mit Aecidiosporen, die von dieser Exkursion mitgebracht worden waren, hatte einen schwachen Erfolg auf Dactylis, weil die Sporen infolge vorgerückten Alters (die Aecidien waren im Verschwinden begriffen) größtenteils ihre Keimfähigkeit eingebüßt hatten.

Versuchsreihe XIV.

Mit Aecidiosporen auf Ran. platanifolius, gesammelt am 22. Juni 1906 im Berner-Jura (gleicher Bezirk wie für das zur Infektion von Reihe XIII verwendete Sporenmaterial) bestäubte ich am 23. Juni folgende Gräser: a) Sämlinge: 2 Dactylis glomerata, je 1 Festuca Halleri, Poa alpina, cenisia, caesia, compressa, sudetica, violacea, pratensis, nemoralis, trivialis. b) Exemplare, die im vorigen Sommer ausgesät worden waren: 2 Dactylis glomerata, je 1 Poa pratensis, violacea, nemoralis, compressa, fertilis.

3. Juli. Dactylis glomerata (die beiden Sämlinge und eines der älteren Exemplare) mit Uredo.

25. Juli. Das eine der alten Dactylis-Exemplare stark infiziert, das andere bloß 1 Uredo-Lager. Die Infektion der Sämlinge gleich geblieben. Diese gingen bald darauf ein, da sie, wie auch die beiden älteren Dactylis-Stauden, stark von Erysiphe graminis befallen wurden. — Aus dem Umstande, daß in Reihe XIII 1 Dactylis (der Sämling) stark, das ältere Exemplar kaum infiziert wurde; und mehr noch, daß in der soeben beschriebenen Versuchsreihe XIV von den

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

beiden genau gleich alten und aus der nämlichen Bezugsquelle stammenden Dactylis-Stauden die eine sozusagen gesund blieb, während die andere zahlreiche Uredo-Lager bekam, scheint hervorzugehen, daß die Stärke der Infektion unter anderem von der Disposition der Nährpflanzen abhängt. Es ist freilich nicht ausgeschlossen, daß in der Natur unter weit günstigeren Infektionsbedingungen, als sie bei der künstlichen Infektion oft vorliegen, die ungleiche Empfänglichkeit der Uredineenwirte weniger in Betracht kommt.

b) Infektionsversuche mit Teleutosporen.

Am 9. August 1905 sammelte ich im Berner-Jura im Gebiet der Fundstellen des Aecidium auf Ran. platanifolius Teleutosporenmaterial eines Uromyces Dactylidis, von dem anzunehmen war, daß er zum eben genannten Aecidium gehörte. Dieses Sporenmaterial wurde in Säckchen im Freien überwintert und im Frühjahr 1906 zu einer Reihe von Infektionsversuchen verwendet, die an verschiedenen Ranunculus-Arten zur Ausführung gelangten. Der erste diesbezügliche Versuch wurde am 21. April, der letzte am 31. Mai eingeleitet.

In bloß zwei Fällen war ein sehr schwacher Erfolg zu verzeichnen, nämlich in den Versuchsreihen XV und XVI. In Reihe XV (Infektion am 7. und 8. Mai. Versuchspflanzen: Ran. platanifolius, aconitifolius, glacialis, alpestris, auricomus, repens, acer, bulbosus, lanuginosus, rutaefolius, Ficaria verna) traten am 25. Mai auf einer Blattstelle von Ran. platanifolius Pykniden auf, denen am 31. Mai blattunterseits drei Aecidien folgten.

In Reihe XVI (Infektion am 17. Mai. Versuchspflanzen: Ran. aconitifolius, glacialis, alpestris, rutaefolius, silvaticus, repens, lanuginosus) fand sich am 12. Juni auf einem Blatt von Ran. glacialis eine Aecidiengruppe, die wahrscheinlich schon mehrere Tage zuvor aufgetreten, aber von mir nicht bemerkt worden war, weil ich mich damals während kurzer Zeit gerade nicht in Bern aufhielt. Ich pflanzte in den betreffenden Topf sogleich einige Dactylis-Keimlinge ein und konstatierte am 25. Juni auf einem Blatt ein Uredo-Lager, das sich nach kurzer Zeit auf drei Lager vermehrt hatte. Damit war die Rückinfektion gelungen und der Entwickelungskreis dieses Uromyces Dactylidis geschlossen.

Das Gesundbleiben der in allen diesen Versuchsreihen verwendeten Pflanzen, mit Ausnahme von Ran. platanifolius und glacialis, konnte im Hinblick auf die äußerst schwache Infektion dieser beiden Wirte nicht als Beweis gelten, daß alle übrigen Ranunculus-Arten als Nährpflanzen dieses Pilzes tatsächlich nicht in Betracht kommen können, um so mehr, als in vielen Versuchen selbst Ran. platanifolius und glacialis pilzfrei blieben. Die Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit, die Spezialisation der Ranunculus-Arten bewohnenden Uromyces festzustellen, erforderte also weitere Experimente, die ich im Frühjahr 1907 mit Infektionsmaterial ausführte, das ich am 7. Oktober 1906 im gleichen Bezirk gesammelt hatte, wie das zu den Infektionsversuchen des Frühlings 1906 benutzte Teleutosporenmaterial. Da das Fehlschlagen der letztjährigen Versuche offenbar im Ueberwinterungsmodus des Sporenmaterials zu suchen war, so mußte vor allem danach getrachtet werden, die in der Natur gegebenen Bedingungen nachzuahmen. Dies geschah dadurch, daß ein Teil des Sporenmaterials in leere Blumentöpfe gebracht und diese im Freien, nur mit etwas Laub bedeckt,

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eingegraben wurden. Vielleicht hatte aber auch die unrichtige Wahl des Zeitpunktes der Infektion der Versuchspflanzen zum Ausbleiben eines befriedigenden Erfolges beigetragen; zur Beseitigung dieser möglichen Fehlerquelle leitete ich im Herbst Kistchenversuche ein, genau so, wie es für die Reihen XI und XII beschrieben worden ist. Es war so dem Pilz selber Gelegenheit geboten (wenn dieser Ausdruck gestattet ist), im Frühjahr mit dem Einsetzen warmer und feuchter Tage, welche die Pflanzen zu neuem Leben wecken, die hervorsprießenden jungen Triebe gleich zu befallen.

Der Rest des Materiales wurde, wie bisher, in einem Tuchsäckchen ins Freie hinausgehängt.

Versuchsreihe XVII.

Am 2. April 1907 legte ich zuvor einen Tag lang aufgeweichte Blattstückchen von Dactylis, die, mit prächtigem Sporenmaterial behaftet, im Säckchen überwintert worden waren, auf die folgenden Versuchspflanzen auf: 1) Ran. rutaefolius, 2) acer, 3) auricomus, 4) aconitifolius, 5) alpestris, 6) repens, 7) Ficaria verna. (Ueber die im botanischen Institut Bern übliche Versuchseinrichtung vergl. Fischer, Ed., Entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen über Rostpilze, verlegt bei K. J. Wyss, Bern 1898.)

26. April. Auf XVII_5 (Ran. alpestris) einige Pykniden beobachtet, die wahrscheinlich schon seit ein paar Tagen vorhanden, aber übersehen worden waren, weil diese Versuchsreihe infolge des guten Gelingens anderer diesbezüglicher Infektionsversuche nur noch wenig Beachtung fand.

2. Mai. XVII_5 (R. alpestris) auf mehreren Blättern wenige teils neue, teils im Verschwinden begriffene Pykniden, sowie 1 Aecidium.

XVII_4 (Ran. aconitifolius) auf einem älteren Blatte ein paar winzige Pykniden.

6. Mai. XVII_5 (Ran. alpestris) nur ganz wenige Pykniden und eine kleine Aecidiengruppe.

XVII_4 (Ran. aconitifolius) noch einige Pykniden.

Versuchsreihe XVIII.

Am 3. April 1907 wurden mit Teleutosporenmaterial, das im Topf überwintert worden war, die nachstehenden Versuchspflanzen infiziert: 1) Ran. silvaticus, 2) repens, 3) acer, 4) lanuginosus, 5) aconitifolius, 6) auricomus.

13. April. Die Kontrolle stellte auf mehreren Blättern von XVIII_5 (Ran. aconitifolius) zahlreiche helle Fleckchen fest.

16. April. 4 Blätter von XVIII_5 (Ran. aconitifolius) mit zahlreichen Pykniden besetzt, die übrigen Versuchspflanzen völlig gesund.

22. April. Die genannten 4 Blätter nebst vielen Pykniden junge, unaufgebrochene Aecidien.

23. April. Außer den Pykniden zahlreiche, teils geöffnete, teils noch geschlossene Aecidien vorhanden.

24. April. Auf 4 Blättern sehr zahlreiche geöffnete Aecidien, auf einem 5. Blatt eine kleine Aecidiengruppe.

2. Mai. Viele Aecidien im Verschwinden begriffen. Stellenweise immer noch zahlreiche Pykniden und junge Aecidien vorhanden.

6. Mai. Die meisten Aecidien vertrocknet und die vom Pilze befallenen Blattteile abgestorben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsreihe XIX.

Für diese am 5. April 1907 ausgeführte Infektion wurde gleiches Pilzmaterial verwendet, wie für die Infektion von Reihe XVIII (im Topf überwintertes).

Als Versuchspflanzen dienten: 1) Ran. aconitifolius, 2) alpestris, 3) lanuginosus, 4) silvaticus, 5) acer.

16. April. 5 Blätter von XIX_1 (Ran. aconitifolius) mit zahlreichen unaufgebrochenen Pykniden. Von XIX_2 (Ran. alpestris) mehrere Blätter etwas deformiert und mit kleinen Flecken versehen.

18. April. $XIX_{1 u. 2}$ (Ran. aconitifolius und alpestris) mit vielen unentwickelten Pykniden.

20. April. An den bezeichneten Wirtspflanzen zahlreiche Pykniden geöffnet.

22. April. Die Infektionsstellen sind auf XIX_1 (Ran. aconitif.), wie folgt, verteilt: 5 Blätter tragen sehr zahlreiche Pykniden, 3 davon auch an den Blattstielen; 3 Blätter besitzen wenige Pykniden (1 derselben auch auf dem Stiel); 3 weitere Blätter endlich sind nur am Stiel infiziert. Die ersten Aecidien bemerkbar. — Von XIX_2 (Ran. alpestris) sind 10 Blätter mit Pykniden versehen, die stärkst erkrankten eingerollt.

23. April. XIX_1 (Ran. aconitifolius) mit zahlreichen offenen, sowie mit noch unentwickelten Aecidien.

24. April. Auf Ran. aconitifolius massenhaft geöffnete Aecidien; die Pykniden größtenteils verschwunden. Ran. alpestris noch keine Aecidien.

25. April. XIX_1 (Ran. aconitifolius) auf Blattstielen und am Grunde mehrerer Blattzipfel da, wo zusammenhängende Infektionsflächen vorhanden sind, oberseits entwickelte Aecidien.

26. April. Ran. alpestris auf der Oberseite eines Blattes eine kleine Aecidiengruppe. Mehrere Blätter mit Pykniden abgestorben, ohne Aecidien gebildet zu haben.

2. Mai. Aeußerst starke Infektion von Ran. aconitifolius: 11 Blätter teils auf Spreite und Stiel, teils nur auf einem von beiden Bestandteilen ausgedehnte Pykniden- und Aecidiengruppen. 4 Spreitenstücke infolge zu starker Infektion abgestorben und von Schimmel befallen. Ran. alpestris auf mehreren Blättern Pykniden.

6. Mai. Auf Ran. aconitifolius noch zahlreiche Aecidiengruppen; viele Blattabschnitte abgestorben und schimmelig. Ran. alpestris noch mit einzelnen Pykniden und (unterseits) mit 2 Aecidien.

Versuchsreihe XX.

Infektion am 10. April 1907 von 1) Ficaria verna, 2) Ran. rutaefolius, 3) lanuginosus, 4) auricomus, 5) platanifolius, 6) acer mit im Topf überwintertem Sporenmaterial. Ran. platanifolius besaß zur Zeit der Infektion bloß 2 Blätter.

16. April. XX_5 (Ran. platanifolius) auf den beiden einzigen Blättern deformierte Stellen.

20. April. Die ersten sicheren Anzeichen der gelungenen Infektion in gelblich verfärbten Blattstellen auf XX_5 (Ran. platanifolius) vorhanden.

22. April. Das eine Blatt von Ran. platanifolius mit zahlreichen Pykniden; auf dem anderen Blatte sind solche aus einem Zipfel hervorgebrochen, während ein Abschnitt dieses Blattes immer noch bloß gelb verfärbt ist.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

23. April. Auf allen infizierten Blattstellen Pykniden vorhanden.

25. April. Eine zusammenhängende Fläche des einen Blattes dicht mit Pykniden besetzt. Das andere Blatt besitzt auf der Oberseite bedeutend weniger und zerstreute Pykniden, dafür unterseits eine einzige große Aecidiengruppe, in der viele Aecidien eben sich öffneten.

2. Mai. Keine wesentliche Veränderung eingetreten, nur sind sämtliche Aecidien des zusammenhängenden Aecidienfeldes geöffnet. Das mit Pykniden noch immer dicht besetzte Blatt trägt unterseits auffallenderweise nur vereinzelte Aecidien. Die infizierten Blätter gegenüber den seit der Infektion gebildeten im Wachstum stark zurückgeblieben. Dies gilt auch für die übrigen Versuchsreihen.

6. Mai. Die infizierten Stellen geschwärzt, tot und mit Schimmel bedeckt.

Versuchsreihe XXI.

Das Teleutosporenmaterial, das zur Infektion dieser Reihe diente, ist derselben Herkunft wie das in den Versuchen XVII—XX verwendete; es wurde, wie das Sporenmaterial der Reihen XVIII, XIX und XX, im Topf überwintert. Am 20. April 1907 belegte ich damit die folgenden Ranunculaceen: 1) Ran. platanifolius, 2) aconitifolius, 3) alpestris, 4) rutaefolius, 5) Ficaria verna, 6) Ran. acer, 7) bulbosus. — Ran. bulbosus wurde am Tage der Infektion eingetopft und war dem botanischen Garten in Bern entnommen worden, in dem zu dieser Zeit sehr viele Exemplare von Ran. bulbosus aus der Nachbarschaft des zum Infektionsversuch benutzten Individuums Pykniden und Aecidien trugen. Es ist deshalb sehr wohl möglich, daß dieses Exemplar bei seiner Verwendung schon erkrankt war.

25. April. Manche Blätter von $XXI_{1 u. 2}$ (Ran. platanifolius und aconitifolius) weisen da, wo die Grasstückchen mit Teleutosporen gelegen hatten, blasse Stellen auf.

30. April. $XXI_{1, 2 u. 3}$ (Ran. platanifolius, aconitifolius und alpestris) mit hellen Fleckchen; auf Ran. platanifolius die ersten Pykniden.

2. Mai. XXI_1 [(Ran. platanifolius) Topf mit 2 mageren Exemplaren, die am Tage der Infektion nur je 1 Blatt besaßen]: Das eine Blatt dicht mit Pykniden besetzt. XXI_2 (Ran. aconitifol.): 4 Blätter, sowie der Stengel mit zerstreuten, teils noch unentwickelten Pykniden. XXI_3 (Ran. alpestris) auf 4 Blättchen einige zum Teil aufgebrochene, zum Teil noch geschlossene Pykniden. XXI_7 (Ran. bulbosus): 1 Blatt mit wenigen, zerstreuten Pykniden (vergl. Bemerkung).

4. Mai. XXI_1 (Ran. platanifolius): Jedes Blatt der beiden Exemplare trägt zahlreiche Pykniden, insbesondere ist eines derselben auf sämtlichen Blattabschnitten förmlich mit solchen bedeckt. $XXI_{2 u. 3}$ (Ran. aconitifolius und alpestris) nicht wesentlich verändert. XXI_7 (Ran. bulbosus), möglicherweise schon vor der Einleitung des Versuches infiziert, besitzt auf einem jungen und auf einem älteren Blättchen eine Anzahl Pykniden.

6. Mai. Das eine Exemplar von Ran. platanifolius auf der Blattunterseite mit jungen, in der Mehrzahl noch geschlossenen Aecidien ganz bedeckt, oberseits mit ebenso zahlreichen Pykniden. Das andere Exemplar auf dem zur Zeit der Infektion einzig vorhandenen Blatte nur mit Pykniden in verhältnismäßig geringer Zahl. Auf $XXI_{2, 3 u. 7}$ (Ran.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aconitifolius, alpestris und bulbosus) keine wesentliche Veränderung eingetreten.

11. Mai. XXI$_1$ (Ran. platanifolius): Das mit geöffneten Aecidien bedeckte Blatt im Absterben. Das zweite Exemplar noch viele Pykniden und bloß 2 Aecidien. XXI$_2$ (Ran. aconitifolius): 4 Blätter teilweise stark infiziert, fast ausschließlich Aecidien. Außerdem eine Partie des Stengels und des Blütenstieles mit zahlreichen Aecidien. XXI$_3$ (Ran. alpestris): Noch wenige Pykniden und Aecidien. Die befallenen Blätter größtenteils abgestorben. XXI$_7$ (Ran. bulbosus): Auf einem jungen Blättchen viele Aecidien, das andere infizierte Blatt mit wenigen Pykniden. XXI$_6$ (Ran. acer) besitzt am Stengel eine winzige Pyknidengruppe, enthaltend 2 Pykniden.

Es ist dieser äußerst schwachen Infektion von Ran. acer kaum eine Bedeutung zuzuschreiben, denn der Umstand, daß in allen übrigen Reihen Ran. acer keine Spur eines Infektionserfolges aufwies, spricht wohl dafür, daß man es mit einer Fremdinfektion zu tun hat, oder vielleicht dafür, daß die infizierte Stelle für die Erkrankung besonders disponiert war. Endlich ließe sich denken, daß unter besonderen Bedingungen Pilzsporen die Fähigkeit bekommen, für sie sonst ungeeignete Pflanzen zu infizieren. — Was die Infektion von Ran. bulbosus betrifft, so gibt es folgende Alternativen: entweder war die Versuchspflanze, was sehr wahrscheinlich ist, im Freien schon infiziert, oder Ran. bulbosus gibt für verschiedene Pilze infolge seiner geringen Widerstandsfähigkeit einen geeigneten Nährboden ab. Zur Entscheidung dieser Frage fehlte mir unzweifelhaft gesundes Versuchsmaterial, da Ran. bulbosus in unserem botanischen Garten und in der Umgebung desselben pilzbefallen ist. Ich werde in einer am Schlusse dieses Abschnittes gegebenen Uebersicht über die Ranunculus-Arten bewohnenden Uromyces Ran. bulbosus als Aecidienwirt dieser biologischen Art des Uromyces Dactylidis nicht aufführen.

Es sei noch kurz das Resultat der im Herbst 1906 eingeleiteten Infektionsversuche im Freien beschrieben, welches durchaus eine Bestätigung der bisherigen Ergebnisse liefert. Dabei ist interessant, zu sehen, daß die Inkubationszeit im Freien sehr lange dauert und daß die ganze Entwickelung des Pilzes bedeutend langsamer sich vollzieht, als in Gewächshausversuchen, natürlich eine Folge der häufigen starken Abkühlung. Freilich ist die Infektion in der Natur auch später erfolgt als im künstlichen Versuche, wo man die Keimung der Sporen, ich möchte fast sagen, in der Hand hat. Denn als ich anfangs April die ersten Infektionsversuche einleitete, erwies sich das im Topf überwinterte Material trotz mancher vorausgegangener warmer Frühlingstage als durchaus keimfähig, es konnte demnach die Infektion der Versuchspflanzen im Freien noch nicht erfolgt sein.

Versuchsreihe XXII (Kistchenversuch).

Ende Juli 1906 pflanzte ich in eine Kiste folgende Versuchspflanzen: Ran. platanifolius, glacialis, bulbosus, silvaticus, lanuginosus, acer, repens, und setzte dazwischen Knöllchen von Ficaria verna. Am 10. Oktober belegte ich die Kiste gleichmäßig mit Dactylis-Blättern, die außerordentlich reichlich mit Teleutosporenmaterial vom Typus des Uromyces Dactylidis besetzt waren und die ich am 7. Oktober im Berner-Jura (im Bezirk des Aecidium auf Ran. platanifolius) gesammelt hatte. In gleicher Weise belegte ich mit

Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

einem Teil des Sporenmaterials 3 Töpfe mit a) Ran. platanifolius, b) aconitifolius, c) rutaefolius und glacialis.

Bis zum 6. Mai war in der Kiste kein Infektionserfolg zu konstatieren; dagegen bemerkte ich an diesem Tage auf Ran. platanifolius und aconitifolius in den Töpfen einige Pykniden. Es ist zu bemerken, daß Ran. glacialis und bulbosus im Boden abgestorben waren; die anderen Versuchspflanzen standen in prächtigem jungen Blätterschmuck.

7. Mai. Ran. platanifolius im Kistchen an 2 Blättern einige Fleckchen, auf denen die Pykniden noch nicht erschienen waren.

11. Mai. Ran. platanifolius mit jungen unentwickelten Aecidiengruppen. Ran. platanifolius und aconitifolius in den Töpfen stark von Pykniden befallen, auch schon einige junge offene Aecidien vorhanden.

26. Mai. Ran. platanifolius im Kistchen auf 2 Blättern zahlreiche Flecken mit prächtigen Aecidien, ein 3. Blatt mit einer Aecidiengruppe. Eine Stelle trägt oberseits noch Pykniden.

Ran. aconitifolius im Topf mittelstark infiziert; das Topfexemplar Ran. platanifolius weist eine sehr starke Infektion auf (beide ausschließlich Aecidien).

Eine in Reserve gehaltene Kiste, die Ran. lanuginosus, bulbosus (abgestorben), repens, silvaticus, acer, aconitifolius, alpestris enthält und auf die ich am 19. April 1907 gleiches Infektionsmaterial wie auf Reihe XXII aufgelegt hatte, mit dem Unterschied, daß es im Säckchen aufbewahrt worden war, zeigte am 11. und 26. Mai noch keine Spur eines Infektionserfolges.

Fassen wir die Ergebnisse der Versuchsreihen XIII bis und mit XXII zusammen, so können wir sagen: Das Aecidium auf Ran. platanifolius im Berner- und Neuenburger-Jura gehört einem Uromyces Dactylidis an, der die Aecidiengeneration außer auf Ran. platanifolius auch auf Ran. aconitifolius, alpestris und glacialis zu entwickeln vermag, aber nicht übergeht auf Ran. rutaefolius, silvaticus, lanuginosus, auricomus, repens, acer, bulbosus (?), Ficaria verna. Ich bezeichne diese neue biologische Art aus dem Formenkreise des Uromyces Dactylidis Otth mit Uromyces Platanifolii-Dactylidis.

3. Aecidium auf Ranunculus silvaticus.

Mit diesem Aecidium ist meines Wissens noch nicht experimentiert worden. Ich benutzte zur Einleitung eines Infektionsversuches vom 19. Juni 1906 Aecidienmaterial, das ich von einer 3 Tage zuvor ins Kiental unternommenen Exkursion nach Hause gebracht hatte.

Versuchsreihe XXIII.

Versuchspflanzen: Dactylis glomerata (Sämling und altes Exemplar), Poa pratensis. Sämlinge: Poa violacea, nemoralis, trivialis, compressa.

28. Juni. Auf Dactylis (Keimling) mehrere, eben aufgebrochene Uredo-Lager, auf dem im vorigen Jahre ausgesäten Exemplare sehr zahlreiche, teilweise noch nicht geöffnete Lager. Die auffallend kurze Inkubationszeit von 9 Tagen ist der damals anhaltend heißen Witterung zuzuschreiben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Juli. Infektion in gleicher Stärke geblieben. Die Versuchspflanzen hatten sehr unter Erysiphe zu leiden, was ihr baldiges Absterben zur Folge hatte, so daß keine Teleutosporen erzielt werden konnten. Die Uredo hatte die für die Uredo von Uromyces Dactylidis charakteristischen Eigenschaften [1]).

Auf einer Exkursion ins Kiental vom 22. Juli fand ich am Standort des Aecidium mit Uredo- und Teleutosporenlagern befallene Dactylis-Blätter. Die Teleutosporen waren vom Typus des Uromyces Dactylidis. Wir dürfen deshalb mit Sicherheit schließen, daß dieses Aecidium auf Ran. silvaticus (= nemorosus) in den Entwickelungskreis eines Uromyces Dactylidis gehört. Zur Feststellung der Spezialisation sind weitere Versuche wünschenswert. Diese nov. f. sp. des Uromyces Dactylidis mag vorläufig Uromyces Silvatici-Dactylidis heißen.

4. Aecidien auf Ranunculus repens.

Wie die Zusammenfassung der bisherigen Forschungsergebnisse über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces lehrt (p. 774—776), sind mit Aecidien auf Ran. repens öfter Infektionsversuche angestellt worden. Es geht aus ihnen zusammen mit meinen eigenen Versuchen vorläufig hervor, daß Ran. repens die Nährpflanze von mindestens zwei verschiedenen, in den Entwickelungskreis eines Uromyces gehörenden Aecidien repräsentiert, wovon das eine zu Uromyces Poae, das zweite zu Uromyces Dactylidis gehört.

a) Uromyces Poae.

Versuchsreihe XXIV.

Am 6. Mai 1906 erhielt ich von Herrn Hasler aus Muri im Aargau Aecidienmaterial auf Ran. repens, mit dem ich, weil das Material spärlich war, nur 3 Pflanzen infizierte (am 8. Mai): Dactylis glomerata, Poa pratensis und trivialis, alle im vorigen Sommer ausgesät.

28. Mai. Poa trivialis ziemlich reichlich Uredo.

20. Juni. Auf Poa trivialis Teleutosporen vom Typus des Uromyces Poae.

Ergebnis dieser Versuchsreihe: Ein Aecidium auf Ran. repens entwickelt sich auf Poa trivialis weiter zu Teleutosporen vom Uromyces-Typus.

b) Uromyces Dactylidis.

(Infektionsversuche mit Teleutosporen.)

Versuchsreihe XXV.

Am 19. September 1905 hatte ich bei Burg in der Nähe von Thörishaus prächtiges Teleutosporenmaterial auf Dactylis glomerata gesammelt, das ich nach der Ueberwinterung im Freien (im Säckchen) am 26. April 1906 zur Infektion einiger Ranunculus-Arten gebrauchte.

---

1) Uromyces Dactylidis ist in der Uredo-Form morphologisch von Uromyces Poae leicht an folgenden Merkmalen zu unterscheiden: Uredo-Lager braun, mit Paraphysen (bei Uromyces Poae Uredo-Lager orangegelb und ohne Paraphysen); Sporenmembran hellbraun, mit 5—8 deutlichen Keimporen. Inhalt gelbbraun.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weil die Teleutosporen einem Uromyces angehörten und von einer Lokalität stammten, an der ich im Sommer 1905 wiederholt auf Ran. acer ein Aecidium gefunden hatte. Zudem hatte ich damals auf Dactylis neben dem Aecidium auf Ran. acer Uredo beobachtet. — Als Versuchspflanzen wählte ich je ein Exemplar Ran. acer, repens, bulbosus, auricomus, lanuginosus, aconitifolius, alpestris und Ficaria verna.

19. Mai. Auf einem Blatte von Ran. repens finden sich Aecidien.

Mehrere Versuchspflanzen hatten unter Blattläusen zu leiden. Ergebnis: Dieser, wenn auch recht spärliche Erfolg, scheint mir doch wahrscheinlich zu machen, daß ein Aecidium auf Ran. repens zu einer biologischen Form der Sammelspecies Uromyces Dactylidis gehört.

Versuchsreihe XXVI (Kistchenversuch).

Ende Juli 1906 bepflanzte ich eine Kiste mit nachstehenden Ranunculus-Species: Ran. bulbosus, glacialis, auricomus, platanifolius, aconitifolius, alpestris, lanuginosus, acer, repens und steckte später dazwischen Ficaria-Knollen.

Am 10. Oktober legte ich zwischen die Stengelbasis dieser Pflanzen Teleutosporen-tragende Dactylis-Blätter. Die Sporen gehörten dem Typus des Uromyces Dactylidis an und waren von mir am 9. Oktober bei Meikirch (bernisches Mittelland) gesammelt worden. — Leider ging derjenige Teil des Teleutosporenmaterials, den ich in einem Topf überwintert hatte, verloren, was sehr zu bedauern ist, da sich gerade diese Art der Ueberwinterung durch meine Versuche als die zweckmäßigste herausstellte.

11. Mai 1907. Auf Ran. repens zahlreiche Pykniden, namentlich dem Stengel entlang; ferner auf einzelnen Blättern kleinere Pyknidengruppen. Die übrigen Versuchspflanzen erwiesen sich als pilzfrei. (Ran. glacialis und bulbosus waren im Herbst abgestorben).

26. Mai. Ran. repens nebst Pykniden zahlreiche Aecidien. Alle übrigen Versuchspflanzen vollkommen gesund.

Eine Versuchsreihe, die ich mit Material gleicher Herkunft, aber im Säckchen überwintert, am 19. April 1907 eingeleitet hatte und in die ich außer den oben genannten Ranunculus-Arten noch Ran. rutaefolius einbezog, ergab bis zum 11. Mai nicht den geringsten Infektionserfolg, auch nicht auf Ran. repens.

Aus den Reihen XXV und XXVI geht hervor, daß ein Aecidium auf Ran. repens zu einem Uromyces Dactylidis gehört und nicht identisch ist mit den Aecidien auf a) Ran. auricomus; b) platanifolius, aconitifolius, alpestris (und glacialis); c) lanuginosus; d) acer; e) Ficaria verna.

5. Aecidium auf Ranunculus bulbosus.

a) Infektionsversuche mit Aecidiosporen.

Versuchsreihe XXVII.

Infektion am 16. Mai 1905 mit einem von Herrn Dr. A. Volkart auf dem Zürichberg gesammelten und freundlichst mir zur Verfügung gestellten Aecidium auf Ran. bulbosus. Die sämtlichen Versuchspflanzen waren Setzlinge vom Sommer 1905:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dactylis glomerata, Poa annua, pratensis, trivialis, nemoralis, compressa, violacea; Rumex obtusifolius.

31. Mai. Dactylis glomerata mittelstark infiziert.

8. Juni. Dactylis ziemlich zahlreiche Uredo-Lager, die sich in der Folge noch vermehrten.

Versuchsreihe XXVIII.

Das Aecidienmaterial, mit dem diese Reihe am 9. Mai 1906 infiziert wurde, stammte aus der Nähe des botanischen Gartens in Bern. Am Fundort des Aecidium war Dactylis glomerata infiziert; auch letztjährige Blätter trugen noch einige Teleutosporenlager, deren Sporen dem Typus des Urom. Dactylidis angehörten. — Versuchspflanzen: 2 Dactylis glomerata, je 1 Poa trivialis, pratensis, palustris, nemoralis (alles ältere Exemplare). Sämlinge: Poa nemoralis, Rumex Acetosa, hydrolapathum.

28. Mai. Die beiden Dactylis etwas spärliche, doch gut verteilte Uredo.

20. Juni. Nebst Uredo auf Dactylis spärliche Teleutosporen vom Typus des Uromyces Dactylidis (Uredo-Lager mit Paraphysen).

Versuchsreihe XXIX.

Infektion am 17. Mai 1906 mit Aecidium auf Ran. bulbosus von Poschiavo in Graubünden (Sendung von Herrn Dr. O. Semadeni). Als häufigsten Begleiter der von ihm gesammelten infizierten Ran. bulbosus nennt Semadeni Anthoxanthum odoratum. — Versuchspflanzen: a) Exemplare, die im letzten Jahr ausgesät worden waren: Dactylis glomerata, Poa trivialis, pratensis. b) Sämlinge: Poa nemoralis, Rumex Acetosa, hydrolapathum, alpinus.

29. Mai. Dactylis mit Uredo. (Am 28. Mai war Poa nemoralis abgestorben).

Die am 7. Juli ausgeführte mikroskopische Untersuchung der Uredo stellte ihre Uebereinstimmung mit der zu Uromyces Dactylidis gehörenden Uredo fest (vgl. darüber z. B. die Anmerkung zu „Aecidium auf Ran. silvaticus“).

b) Infektionsversuch mit Teleutosporen.

Versuchsreihe XXX.

Mit Teleutosporen (Urom. Dactylidis) auf Dactylis glomerata, gesammelt am 2. September 1905 bei Meikirch, leitete ich am 24. April 1906 einen Infektionsversuch ein, der, wie alle meine im Frühjahr 1906 mit Teleutosporenmaterial ausgeführten Experimente, einen nur sehr schwachen Erfolg erzielte. Positive Erfolge mit Teleutosporen können aber, die Verwendung gesunder Versuchspflanzen und einige Sorgfalt bei der Versuchsanstellung und bei der Isolation der Reihen vorausgesetzt, als zuverlässig gelten, weshalb ich die Ergebnisse meiner diesbezüglichen Versuche glaube mitteilen zu sollen.

Versuchspflanzen (sämtliche im Sommer 1905 eingetopft): Ran. acer, aconitifolius, alpestris, auricomus, bulbosus, lanuginosus, repens (mageres Exemplar), silvaticus, Ficaria verna.

18. Mai. Ran. bulbosus auf einem Blattstiel Pykniden.

(Schluß folgt.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Chlorose der Reben.

[Arbeiten der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Von Dr. Emil Molz.

Mit 4 Tafeln und 8 Abbildungen im Text.

(Fortsetzung.)

Die hydrographischen Aufzeichnungen in Rheinhessen datieren nur zurück bis zum Januar 1901. Es mußten deshalb für die Periode vom 1. September 1900 bis 1. Januar 1901 die Aufzeichnungen der Geisenheimer Wetterstation, die in nächster Nähe des rheinhessischen Gebietes liegt, benutzt werden. Vom 1. Januar 1901 ab wurden die Aufzeichnungen der rheinhessischen Wetterstationen Worms, Oppenheim, Mainz, Alzey, Nieder-Saulheim, Gau-Algesheim, Wöllstein und Wallertheim berücksichtigt. Gau-Algesheim fällt am 30. April 1903 und Wallertheim am 31. Oktober 1903 heraus, da diese Regenstationen in der genannten Zeit aufgehoben wurden, dafür kam am 1. Juli 1903 Bingen neu hinzu.

Im Mittel ergeben die Aufzeichnungen der genannten Stationen folgende Zahlen:

	Von 1. IX. 1900 bis 31.VIII. 1901	Von 1. IX. 1901 bis 31.VIII. 1902	Von 1. IX. 1902 bis 31.VIII. 1903	Von 1. IX. 1903 bis 31.VIII. 1904	Von 1. IX. 1904 bis 31.VIII. 1905
September	29,4	91,4	39,7	34,3	63,7
Oktober	60,7	85,1	34,8	50,3	39,7
November	32,1	16,0	18,6	45,5	24,7
Dezember	58,3	38,9	50.9	16.9	27,5
Januar	14,6	22,4	32,0	25,9	28,2
Februar	15,1	38,0	11,9	51,2	15,8
März	47,6	40,7	24,2	48,7	48,2
April	44,3	31,9	50,2	32,2	15,7
Mai	25,9	37,5	21,1	56,6	28,5
Juni	49,8	31,6	57,1	65,6	77,6
Juli	43,8	23,2	64,9	22,5	24,0
August	105,8	58,4	62,9	54,3	35,9
Summe	527,4	515,1	468,3	504,0	429,5

Durch eine graphische Darstellung der Zahlen der Summen der Niederschläge der in Rücksicht gezogenen Jahresperioden und der Zahlen für den Intensitätsgrad der Chlorose in den gleichen Jahren erhalten wir zwei Kurven, die bis zu einem gewissen Grade eine übereinstimmende Tendenz erkennen lassen. Auf der Abscissenachse stehen die Jahreszahlen, die Ordinaten steigen mit den Zahlen des Intensitätsgrades der Chlorose und der Höhe der Niederschläge. Die Jahreszahlen geben die oben gekennzeichneten Perioden an, also 1901 bedeutet den Zeitraum vom 1. September 1900 bis 31. August 1901 u. s. w.

Für die Abweichungen der beiden Kurven voneinander müssen einmal die Ungleichwertigkeit der winterlichen und sommerlichen Niederschlagsmengen und andernteils die verschiedene durchschnittliche Höhe

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Sommertemperatur verantwortlich gemacht werden. Auch die Stärke des Auftretens der Chlorose im Jahre vorher wird für das folgende Jahr nicht ohne Einfluß bleiben. Die im Winter gefallenen Niederschlagsmengen, namentlich der Schnee, tragen weit mehr zur Ansammlung der Bodenfeuchtigkeit bei als diejenigen des Sommers, die zum weitaus größten Teil ablaufen oder verdunsten, letzteres um so mehr, je höher die Temperatur ist. In der Wachstumsperiode 1901 fallen 51,1 Proz. der Niederschlagsmenge in die wärmeren Monate April, Mai, Juni, Juli und August; in der Periode 1902 nur 35,4 Proz., 1903 sind es

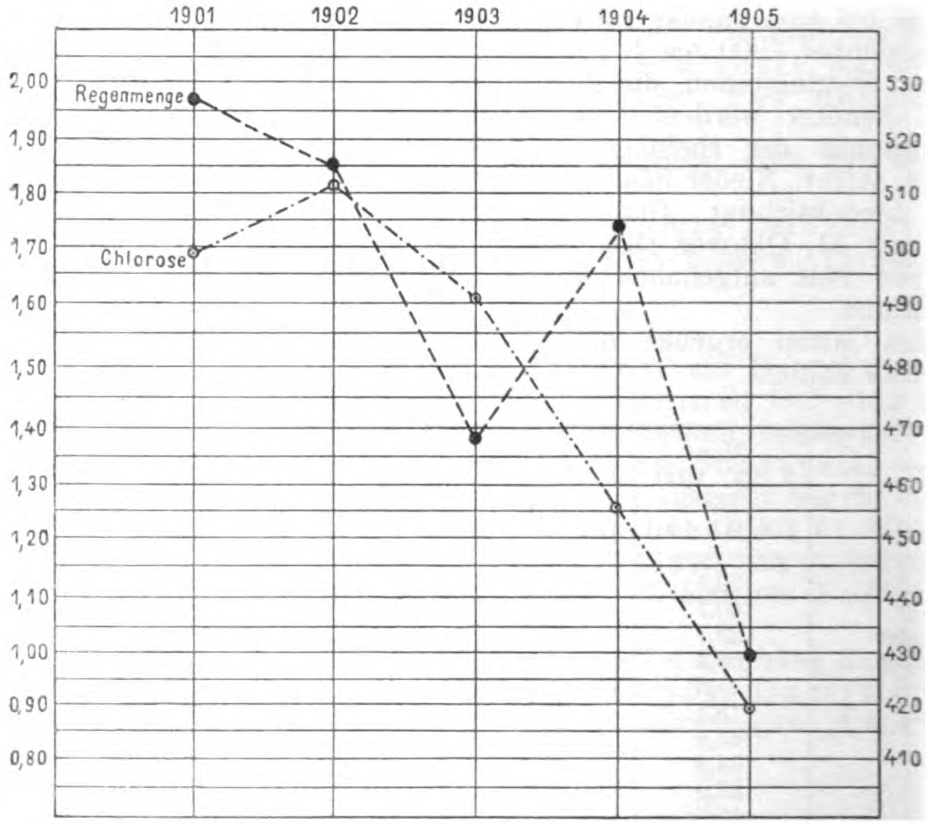


Fig. 3.

wieder 54,7 Proz., 1904 45,9 Proz., 1905 44,6 Proz. der Gesamtmenge. Es bestehen aus diesem Grunde zwischen den summarisch nicht sehr verschiedenen Feuchtigkeitsmengen von der Periode 1902 und der Periode 1904 in ihrer Beziehung zu dem Chlorosephänomen doch sehr wesentliche Unterschiede, denn die sommerlichen Niederschläge in der Periode 1902 betragen nur 35,4 Proz., diejenigen von 1904 aber 45,9 Proz. der Gesamtmenge. Dazu kommt aber noch, daß die mittlere Temperatur für die in Betracht gezogenen Sommermonate, wie aus der nachstehenden Zusammenstellung zu ersehen ist, im Jahre 1902 nur 14,9° betrug, während 1904 einen mittleren Wärmegrad in der genannten Zeit von 16,6° aufweist, also nahezu 2° mehr, und das ist sehr viel. Diese höhere Temperatur beeinflußt aber in hohem Grade die Verdunstungsgröße der gefallenen Regenmengen und des kapillar aufsteigenden Bodenwassers.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	1901	1902	1903	1904	1905
April	10,1°	10,6°	6,2°	11,0°	8,7°
Mai	15,1°	10,6°	14,2°	14,7°	13,5°
Juni	17,6°	17,2°	16,2°	17,6°	18,9°
Juli	19,9°	18,6°	18,1°	21,5°	21,5°
August	17,7°	17,3°	17,6°	18,1°	18,7°
Im Mittel	16,1°	14,9°	14,5°	16,6°	16,3°

So sagt Wollny[1]): „Die Unterschiede in dem Feuchtigkeitsgehalte der Böden werden um so mehr hervortreten, je feuchter, kälter und ruhiger die Witterung ist, während dieselbe in dem Maße unter Umständen aufgehoben werden, je mehr der Zustand der Atmosphäre einer ergiebigen Verdunstung Vorschub leistet." Beide Momente, der hohe Prozentsatz der sommerlichen Regenmenge im Vergleich zu den winterlichen und die wärmere Temperatur des Sommers wirken gleichsinnig, verstärkt noch durch die geringe Wassermenge des Bodens vom Jahre vorher, und wir finden den Effekt ausgesprochen in dem Absteigen der Chlorosekurve. Fast genau so liegen die Verhältnisse in der Periode 1901, auch hier sehen wir die gleiche Wirkung.

Mit diesen Feststellungen ist der Nachweis erbracht, daß in dem Weinbaugebiet von Rheinhessen ein enger Zusammenhang zwischen den dem Boden zugeführten Wassermengen und dem Intensitätsgrad der Chlorose besteht.

In Jahren mit sehr großen Niederschlagsmengen chlorosieren aber keineswegs alle Weinberge, sondern es sind immer nur bestimmte Bodenarten, in denen die Reben zu dieser Erkrankung neigen. Aus unserer Enquete geht hervor, daß in weit überwiegendem Maße den schweren Bodenarten, den Tonen, Letten und Mergeln ein chlorosierendes Vermögen zugeschrieben werden muß. Da, wo leichte Bodenarten angeführt wurden, kann man mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß diese auf undurchlässigem Untergrunde auflagern. Diesbezüglich sagt Kulturingenieur Luedecke[2]): „Sehr häufig liegen die Verhältnisse so, daß der aus wasserdichtem Letten bestehende Abhang oft $1/2$ m, oft auch noch viel stärker, mit wasserdurchlassendem, von der Höhe herabgeflößten Schutt, Sand und Lehm bedeckt ist, in welchem sich dann das Wasser bewegt." Die schweren Böden der rheinhessischen Weinberge gehören fast ausschließlich den Cyrenenmergeln und Septarientonen an.

Die Cyrenenmergel bilden in Rheinhessen die Tonmergelböden. Ihre Farbe ist hell- bis dunkelgrau. Sie gelten als vorzügliche Weinbergsböden. Diese Böden besitzen nach Luedecke[3]) durchgängig einen ziemlich hohen Kalkgehalt und einen sehr hohen Prozentsatz von Feinerde, sie sind sehr arm an Steinen (Feinboden: Ackerkrume 95 Proz., Untergrund 97 Proz.), der Sandgehalt beträgt 16—17 Proz., der an Staub 21—25 Proz. und der an feinsten Teilen Ackerkrume 57 Proz.,

1) Wollny, Untersuchungen über den Einfluß der Struktur des Bodens auf dessen Feuchtigkeitsverhältnisse. (Forsch. a. d. Gebiet d. Agrikulturphysik. Bd. XVI. Heft 5; zit. aus Beih. z. Bot. Centralbl. 1895. p. 157.)

2) Luedecke, Weinbau und Weinhandel. 1892. No. 49. p. 601.

3) Luedecke, Die Boden- und Wasserverhältnisse der Provinz Rheinhessen, des Rheingaues und Taunus. (Abhandlg. d. Großh. Hess. geol. Landesanstalt zu Darmstadt. Bd. III. 1899. p. 211 ff.). Auch den Angaben der Zusammensetzung des Septarientones, der Cerithien- und Corbiculakalke wurden die Ausführungen Luedeckes zu Grunde gelegt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untergrund 63 Proz. Die Wasserkapazität ist eine sehr hohe (49 Proz. Max., 23 Proz. Min.).

Der Septarienton liefert einen grauen, mehr grünfarbigen Tonboden. Der Kalkgehalt ist fast durchgängig etwas geringer als derjenige des Cyrenenmergels. Diese Böden sind fast vollständig steinfrei (Ackerkrume 98 Proz., Untergrund 100 Proz. Feinboden). Der Sandgehalt ist relativ hoch (Ackerkrume 18 Proz., Untergrund 9 Proz.). Die Wasserkapazität beträgt 53 Proz. im Maximum, 24 Proz. im Minimum. Zumeist finden sich diese Böden am unteren Teil der Berghänge. Die meisten Formen des Septarientones, wie auch des Cyrenenmergels werden in Rheinhessen als „Letten" bezeichnet.

Auch die Böden des Cerithienkalkes besitzen, besonders wenn sie stark mit Cyrenenmergel gemischt sind, die Eigenschaft, leicht Chlorose bei den auf ihnen stockenden Rebstöcken hervorzurufen. Das verbreitete Auftreten der Gelbsucht im Zotzenheimer Berg ist beispielsweise auf die Undurchlässigkeit dieser Bodenmischung im Verein mit ihrem hohen Kalkgehalt zurückzuführen. Der Cerithienkalk ist reicher an Steinen als die beiden vorgenannten Bodenarten. Er besitzt im Durchschnitt etwa 85 Proz. Feinerde, die Wasserkapazität ist aber der des Cyrenenmergels gleich. Der Kalkgehalt ist sehr hoch (26,1 Proz. CaO). Diese Böden sind sehr hellfarbig bis weißlich. „Da die Böden ganz hellgrau gefärbt sind", sagt Luedecke (l. c.), „würde man geringen Eisengehalt vermuten; die Analyse zeigt aber, daß der fast weiße Boden vom Wißberg fast ebensoviel Eisen enthält als der dunkelbraune des Corbiculakalkes von Ingelheim (3,5 Proz.)."

Hie und da wird die Gelbsucht auch auf Corbiculakalken beobachtet. Die Böden dieses Gesteins sind aber sehr durchlässig, doch kommen bei ihnen mitunter Ton- und Lettenlagen zwischen den Kalkschichten vor, und dürften diese in gleicher Weise wie die Tonlagen unter Kies bei der Entstehung der Chlorose wirksam sein.

Es ist für das Auftreten der Chlorose eine charakteristische Erscheinung, daß sie zumeist an bestimmte, mehr oder weniger umfangreiche Stellen in den Weinbergen beschränkt ist. Dabei wollen wir vorerst das Vorkommen einzelner chlorotischer Stöcke in sonst gesunden Bezirken unberücksichtigt lassen. Um festzustellen, welche Ursache dieser Lokalisierung der Krankheit zu Grunde liegt, habe ich in verschiedenen Gemarkungen Rheinhessens von derartig chlorotischen Weinbergsstellen Erdproben entnommen und zwar zumeist in Tiefen von 20 und 70 cm. Desgleichen wurden in geringer Entfernung von diesen Chloroserevieren von mit gesunden Reben bestockten Plätzen aus den nämlichen Tiefen Vergleichsproben behoben, und beide der physikalischen Analyse unterworfen. Diese wurde mit dem Kühnschen Schlämmcylinder ausgeführt. Die Trennung des Rückstandes erfolgte durch einen Siebsatz, der Bohrungen von 3, 2, 1, 0,42, 0,19, 0,1 mm enthielt [1]. Der Boden wurde hierbei zerlegt in:

1. Körner von $>$ 3 mm Durchmesser
2. „ „ 2 — 3 „ „
3. „ „ 1 — 2 „ „
4. „ „ 0,42 — 1 „ „
5. „ „ 0,19 — 0,42 „ „
6. „ „ 0,1 — 0,19 „ „
7. „ „ $<$ 0,1 „ „
8. Abschlämmbare Bestandteile.

1) Nach den Vereinbarungen der Vorsteher deutscher landwirtschaftlicher Versuchsstationen. (Landw. Versuchsst. Bd. XXXVIII. p. 309.)

Weiterhin wurde bei diesen Bodenproben der Gehalt an Kalk als $CaCO_3$ vermittels des Geißlerschen Apparates und einer analytischen Wage bestimmt. Bei dieser Bestimmung wurde nur die Feinerde unter 1 mm Durchmesser berücksichtigt, einmal in ihrer Gesamtheit, dann aber auch in den einzelnen bei dem Sieben sich ergebenden Korngrößen. Der in die Tabelle eingetragene Kalkfaktor stellt die Zahl dar, die man erhält durch Multiplikation der Zahl, die den Prozentsatz des Gewichtes der jeweiligen Korngröße angibt mit dem Prozentsatz des Kalkes des gleichen Siebproduktes. Dieser Kalkfaktor dient nur einer raschen Vergleichsmöglichkeit des Größenverhältnisses des absoluten Kalkgehaltes in den einzelnen Siebgrößen des Bodens.

(Siehe Tabelle p. 720—723.)

Es geht aus den erhaltenen Zahlen das eine Resultat ohne weiteres hervor, daß in all den untersuchten Fällen der Boden, auf dem Chlorose hervorgetreten ist, sehr reich an Kalk ist. Der Prozentsatz bewegt sich zwischen 14,07 und 55,40 Proz. $CaCO_3$. Es zeigt aber die Tabelle weiter, daß der Kalkgehalt allein die Chlorose nicht auslöst, denn die Fälle, daß die neben oder oberhalb der Chlorosestelle liegenden, gesunden Weinbergsdistrikte einen höheren Kalkgehalt als die ersteren aufweisen, sind ziemlich zahlreich. Auch eine Vergleichung der Kalkfaktoren der verschiedenen Korngrößen der Böden von chlorosierenden und nicht chlorosierenden Weinbergsstellen führt zu keinem Resultat, ebenso wenig läßt die physikalische Beschaffenheit der untersuchten Böden allgemein ein Urteil nach der einen oder der anderen Richtung zu. Wir erhalten aber für das Auftreten der Chlorose in dem einen Fall und das Gesundbleiben der Reben in dem anderen eine Erklärung, wenn wir die Terrainverhältnisse berücksichtigen. Unter 10 Fällen finden wir, daß 7mal die erkrankten Stöcke am Fuße einer Hügel- oder einer Berglage liegen, in einigen Fällen kommt noch eine muldenartige Vertiefung an der chlorosierten Stelle hinzu. Bei No. 13/14 erstreckt sich die muldenartige Einsenkung der Bodenoberfläche aber auch über das gesunde Terrain, doch bestehen hier zwischen dem chlorosierenden und dem nicht chlorosierenden Boden große Unterschiede, nicht im Kalkgehalt, sondern in der physikalischen Beschaffenheit des Bodens, die sich im Prozentsatz der einzelnen Korngrößen ausspricht. Der Boden bei No. 13 und 14 ist durchlässig, während er es bei No. 11 und 12 nicht ist. Denselben Fall beobachten wir in den Rubriken 31—34, hier hat die nicht chlorosierte Stelle gleichfalls durchlässigen Untergrund, während der Boden an der chlorosierten Stelle infolge seines hohen Gehaltes an abschlämmbaren Teilen mehr oder weniger undurchlässig ist. In diesem Falle allein zeigt die chlorosierte Stelle einen bedeutend höheren Kalkgehalt als die nicht chlorosierte.

Die vorstehend untersuchten Fälle deuten darauf hin, daß in kalkreichen und undurchlässigen Böden es häufig die Terrainverhältnisse sind, die das Entstehen der Chlorose indirekt veranlassen. Am Fuße der Hügellagen sammelt sich das von den Hängen ablaufende Wasser und bewirkt hier in undurchlässigen Böden von großer Wasserkapazität eine Anstauung der Bodennässe, aus welcher ein nachteiliger Einfluß auf die an solchen Stellen stockenden Reben entstehen muß. In gleicher Weise wirken Bodenmulden und alle Lagerungsverhältnisse der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mechanische Analyse und Bestimmung des Kalkgehaltes chlorosierender und nicht chlorosierender Böden aus dem Weinbaugebiete von Rheinhessen.

Laufende No.	Gemarkung	Gewann	Zustand der Rebstöcke	Tiefe der Entnahme der Bodenproben	Terrainverhältnisse	a = Bodenbestandteile b = % $CaCO_3$ c = Kalkfaktor	> 3 mm %	> 2 mm %	> 1 mm %	> 0,42 mm %	> 0,19 mm %	< 0,1 mm %	> 0,1 mm %	Abschlämmbar %	Gehalt der Feinerde unter 1 mm am $CaCO_3$ %
1	Hackenheim	Bummel	Chlorotisch	30 cm	Am Fuße eines Weinberges in geneigter Lage	a	0,95	0,35	0,42	1,17	3,31	11,20	16,14	66,46	
						b				30,01	19,09	23,34	26,85	15,48	18,61
						c				35	63	261	433	1030	
2	"	"	"	80 "	Wie vorher	a	0,38	0,18	0,20	0,45	1,39	5,05	28,15	64,20	
						b				25,22	29,81	33,85	22,18	26,35	25,66
						c				11	41	171	624	1692	
3	"	"	Gesund	30 "	Im oberen Teil dieser Lage	a	0,74	0,16	0,32	0,56	1.05	3,87	19,22	74,08	
						b				26,74	27,14	31,83	16,20	17,27	17,80
						c				16	28	123	311	1280	
4	"	"	"	80 "	Wie vorher	a	0,99	0,20	0,25	0,70	1,22	4,40	20,61	71,63	
						b				27,03	27,39	37,73	14,79	25,22	23,65
						c				19	33	166	305	1807	
5	Freibaubersheim	"	Chlorotisch	30 "	Am Fuße eines Weinberges in geneigter Lage	a	0,85	0,50	0,97	1,67	3,00	6,57	16,95	69,49	
						b				27,30	9,23	19,60	21.34	11,50	14,07
						c				46	28	129	362	799	
6	"	"	"	30 "	Weiter oben wie 5	a	1,30	0,25	0,39	1,10	3,05	9,95	15,96	68,00	
						b				9,01	15,66	17,75	20,68	19,09	19,20
						c				10	48	177	330	1298	
7	Hackenheim	Leichweg	"	30 "	Am Fuße eines Weinberges in geneigter Lage	a	0,35	0,30	0,71	1,28	2,35	9,10	20,05	65,86	
						b				17,24	18,59	21,18	26,04	16.36	18,97
						c				22	44	193	522	1078	
8	"	"	"	70 "	Wie vorher	a	0,00	0,01	0,03	0,52	3,10	9,42	8,21	78,71	
						b				13,89	24,40	25,98	27,20	29,51	28,81
						c				7	76	245	223	2329	

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

9	„	„	Gesund	30 „	Weiter oben wie 8	a b c	0,89	0,21	0,50	0,85 18,68 16	1,75 15,83 28	9,55 24,86 237	19,30 23,74 458	66,95 22,00 1473	22,62
10	„	„	„	70 „	Wie vorher	a b c	0,00	0,12	0,13	1,04 35,59 37	3,97 29,26 116	14,89 26,21 390	16,35 28,40 464	63,50 32,81 2083	31,06
11	„	Vor dem Berg	Chlorotisch	30 „	Mitten in einem Weinberg bei geneigter Lage, doch schwach muldenartig vertieft	a b c	0,39	0,27	0,68	1,29 71,50 92	3,70 24,52 91	13,68 25,13 344	17,05 32,20 539	62,94 18,62 1168	22,72
12	„	„	„	70 „	Wie vorher	a b c	0,83	0,07	0,41	0,65 48,89 32	2,60 27,26 71	8,69 27,67 240	9,88 34,98 345	76,87 24,12 1854	25,75
13	„	„	Gesund	30 „	„ „	a b c	2,49	0,72	1,32	2,48 70,70 175	15,85 18,55 294	20,80 24,13 502	16,31 25,24 412	40,03 26,22 907	24,27
14	„	„	„	70 „	„ „	a b c	3,12	0,93	1,78	3,10 53,62 166	19,82 19,76 392	19,62 22,32 438	17,04 24,27 414	34,59 30,90 1069	26,32
15	Gensingen	Muhlenberg (vornen)	Chlorotisch	20 „	Am Fuße eines Weinberges in geneigter Lage	a b c	2,20	0,21	0,37	1,89 17,87 34	7,17 19,18 138	10,41 26,19 273	13,04 25,90 338	64,71 23,96 1551	24,01
16	„	„	„	70 „	Wie vorher	a b c	1,22	0,18	0,39	2,08 18,24 38	5,54 19,45 108	9,70 20.32 197	14,47 26,79 389	66,42 23,03 1530	23,04
17	„	„	Gesund	20 „	Weiter oben wie 16	a b c	1,21	0,10	0,19	1,22 4,32 5	3,38 5,40 18	4,99 10,19 51	12,45 12,51 156	76,46 6,11 467	7,08
18	„	„	„	70 „	Wie vorher	a b c	0,12	0,10	0,13	0,73 14,87 11	4,75 17,18 82	10,19 19,30 197	8,49 20,07 170	75,49 29,50 2227	26,97
19	„	Muhlenberg (hinten)	Chlorotisch	20 „	Mitten in einem Weinberg in geneigter Lage	a b c	1,01	0,15	0,29	2,19 16,73 37	5,48 23,43 128	9,45 25,18 238	12,98 26,79 348	68,45 28,73 1967	27,58

Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Laufende No.	Gemarkung	Gewann	Zustand der Rebstöcke	Tiefe der Entnahme der Bodenproben	Terrainverhältnisse	a = Bodenbestandteile b = % $CaCO_3$ c = Kalkfaktor	> 3 mm %	> 2 mm %	> 1 mm %	> 0,42 mm %	> 0,19 mm %	> 0,1 mm %	< 0,1 mm %	Abschlämmbar %	Gehalt der Feinerde unter 1 mm an $CaCO_3$ %
20	Gensingen	Muhlenberg (hinten)	Chlorotisch	70 cm	Wie vorher	a b c	0,00	0,00	0,15	0,60 23,18 14	1,48 24,70 37	6,95 25,20 175	15,72 28,83 453	75,10 30,12 2262	29,46
21	„	„	Gesund	20 „	Weiter unten wie No. 20	a b c	0,14	0,13	0,38	3,10 12,24 38	6,61 13,16 87	8,23 16,84 139	11,42 17,23 198	69,99 18,09 1266	17,40
22	„	„	„	70 „	Wie vorher	a b c	0,07	0,06	0,13	0,49 19,57 10	0,98 22,58 22	4,05 24,58 100	6,74 26,18 176	87,48 27,84 2436	27,51
23	Welgesheim	Wegland	Chlorotisch	20 „	Im unteren Teil eines Weinberges in schwach geneigter Lage	a b c	1,89	0,50	0,80	2,06 21,02 43	2,82 22,73 64	5,48 20,18 111	21,91 17,39 381	64,54 25,21 1627	23,00
24	„	„	„	70 „	Wie vorher	a b c	0,78	0,25	0,50	1,27 14,82 19	1,32 18,16 24	4,50 17,07 77	24,90 12,54 312	66,48 21,70 1443	19,05
25	„	„	Gesund	20 „	Im oberen Teil desselben Weinberges	a b c	1,85	0,18	0,46	1,28 20,17 26	2,26 22,70 51	7,57 23,59 179	7,39 24,85 184	79,01 24,60 1944	24,45
26	„	„	„	70 „	Wie vorher	a b c	0,00	0,00	0,42	2,15 17,16 37	2,84 20,68 59	5,95 20,15 120	6,24 19,36 121	82,40 13,67 1127	14,71
27	„	Platte	Chlorotisch	20 „	Am Fuße einer geneigten Lage	a b c	3,30	1,06	1,70	2,67 35,64 95	2,79 29,26 82	5,28 30,58 161	9,21 29,92 276	73,99 18,78 1390	21,34

Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

28	„	„	„	70 „	Wie vorher	a	2,34	0,88	1,65	2,54	2,55	4,90	8,41	76,73	
						b				36,52	30,43	31,20	27,06	18,82	22,04
						c				93	78	153	228	1444	
29	„	„	Gesund	20 „	Weiter oben am Hang	a	3,28	0,75	1,46	2,55	2,30	5,08	9,89	74,69	
						b				58,08	45,32	20,73	13,64	24,37	23,76
						c				148	104	105	135	1820	
30	„	„	„	70 „	Wie vorher	a	1,42	0,34	1,03	1,50	2,45	8,42	14,38	70,46	
						b				33,66	28,82	17,82	15,18	23,71	22,22
						c				50	71	150	218	1671	
31	Zotzenheim	Sonnhell	Chlorotisch	20 „	Mitten in einem schwach geneigten Weinberge	a	6,37	1,00	2,99	8,52	5,35	4,96	7,62	63,19	
						b				19,50	26,69	38,59	38,68	32,05	31,46
						c				166	143	191	295	2025	
32	„	„	„	70 „	Wie vorher	a	8,41	1,42	3,20	5,55	3,36	4,28	7,20	66,58	
						b				34,14	53,33	46,82	39,40	34,78	36,43
						c				189	179	200	284	2316	
33	„	„	Gesund	20 „	Wie vorher	a	4,70	0,51	2,22	7,72	6,03	7,04	10,70	61,08	
						b				5,00	10,46	17,02	13,28	16,11	14,55
						c				38	63	120	142	984	
34	„	„	„	70 „	Wie vorher	a	9,40	1,88	7,47	20,12	8,10	3,51	10,97	38,55	
						b				2,42	1,98	4,12	6,49	11,80	7,45
						c				49	16	14	71	455	
35	„	Lange Sonnhell	Chlorotisch	20 „	In einer Mulde am Fuße einer stark hängenden Lage	a	1,60	0,63	1,13	2,46	4,20	6,21	7,18	76,59	
						b				30,36	31,86	28,16	33,88	43,99	41,36
						c				75	134	175	244	3369	
36	„	„	„	70 „	Wie vorher	a	1,21	0,42	1,07	2,70	4,15	6,84	6,52	77,09	
						b				35,64	22,44	33,40	27,94	62,15	55,40
						c				96	93	228	182	4791	
37	„	„	Gesund	20 „	In stark geneigter Lage ohne Mulde	a	5,83	0,55	1,06	2,54	2,80	5,30	6,72	75,20	
						b				45,98	22,56	35,86	39,60	57,66	52,64
						c				117	63	190	266	4336	
38	„	„	„	70 „	Wie vorher	a	0,72	0,20	0,63	1,69	2,22	8,00	6,77	79,77	
						b				57,74	47,74	50,81	51,48	63,63	61,31
						c				98	106	406	349	5076	

Bodenschichten, die eine allzureichliche Ansammlung von Wasser im Bereiche der Rebwurzeln bewirken.

Man kann in Rheinhessen die eben geschilderten Verhältnisse in vielen Hundert Fällen bestätigt finden. Fast überall läßt sich ein Zusammenhang zwischen der Wassermenge des Bodens und dem Erscheinen der Chlorose finden[1]).

Auch in anderen Gegenden hat man ähnliche Beobachtungen gemacht. So tritt nach Wahrnehmung vieler Winzer die Chlorose in den kalkreichen Böden der Charente und der Champagne besonders in den Jahren mit feuchtem Frühjahr stark hervor[2]).

Mach und Kürmann[3]) beobachteten im Jahre 1876 in Tirol, daß die Gelbsucht nur an solchen Stellen auftrat, deren Boden mit Wasser übersättigt war.

Bisset[4]) vertrat schon im Jahre 1877 die Ansicht, daß die Rebenchlorose mit der Alkalität des Bodens und einem Ueberschuß an Feuchtigkeit in demselben ursächlich zusammenhänge.

„In den kalkhaltigen Böden", sagt Ravaz[5]), äußerst sich die Chlorose auf keiner Varietät, wenn die Trockenheit intensiv ist, und wenn der Boden trocken ist."

Chauzit[6]) weist im Jahre 1901 darauf hin, daß bei gleicher Sorte die Reben um so gelber sind, je reicher das Terrain an Kalk ist und je zahlreicher die Regen sind. Dagegen ist in Gegenden, deren Böden nur sehr wenig Kalk besitzen, die Rebe trotz der großen Regenmengen nicht gelb geworden.

Den letzteren Fall, daß die Feuchtigkeit allein nicht Ursache der Chlorose ist, finden wir in den Beobachtungen Dufours[7]) bestätigt. „Es beweisen dies die vielen Weingärten, welche am Ufer von Flüssen in entwässerten Sümpfen angelegt sind, in welchen der Grundwasserspiegel nur 30—40 cm von den Wurzeln entfernt ist, und wo nie eine Spur von Chlorosis zu finden war."

Der Präsident der Landwirtschaftsgesellschaft des Departements Aude, P. Castel, hebt hervor[8]), daß die Neupflanzungen veredelter Reben im 4. bis 5. Jahre nach der Veredelung absterben, wenn der Boden mehr als 32 Proz. kohlensauren Kalk in der Feinerde enthält. Doch in schweren Böden mit undurchlässigem Untergrunde, in dem sich leicht das Wasser ansammelt, genügt ein Gehalt von etwa 7—11 Proz. $CaCO_3$, um das Absterben der veredelten Reben herbeizuführen.

Auf diesen Umstand macht auch Kober[9]) aufmerksam. Er sagt: „Einen weiteren, die Wirksamkeit des vorhandenen Kalkes erhöhenden Umstand bildet die Undurchlässigkeit des Untergrundes. Viele Beispiele in der Praxis zeigen uns, daß in undurchlässigem Untergrunde die amerikanischen Rebsorten schon bei geringem Kalkgehalte chlorosieren."

1) Vergl. auch Luedecke, Weinbau und Weinhandel. 1892. No. 49. p. 601. — Pfeiffer, F., Die Gelbsucht der Reben und ihre Bekämpfung. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. Jahrg. XVIII. 1906. p. 100.

2) Roux, l. c. p. 338; siehe auch: Revue de viticulture. T. XIII. 1900. p. 712.)

3) Mach und Kürmann, Biedermanns Centralbl. 1877. p. 58.

4) Bisset, Progrès agr. et vit. 3 avril 1877.

5) Zit. nach Roux, l. c. p. 377.

6) Chauzit, Revue de viticulture. T. XV. 1901. p. 718; s. auch ibid. T. XVIII. 1902. p. 15.

7) Dufour, E., Die Chlorosis. (Allg. Weinztg., 1898. No. 23. p. 223.)

8) Siehe Weinbau und Weinhandel. 1893. No. 7. p. 75.

9) Kober, Fr., Die Weinlaube. 1898. No. 5. p. 50.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Tatsache des Zusammenhanges zwischen Bodennässe in Kalkböden und der Entstehung der chlorotischen Erkrankung der Reben steht auf Grund meiner Untersuchungen und der vielfachen Beobachtungen von Fachmännern in allen Gegenden unzweifelhaft fest. Die Ansichten über die Art der Wirkung des Wassers in den beregten Fällen weichen aber sehr voneinander ab. Ehe wir uns mit ihnen befassen, und bevor ich meine Ansicht hier niederlege, will ich die von mir nach dieser Richtung angestellten Versuche und deren Ergebnisse vorausschicken, da eine experimentell gewonnene Grundlage der beste Ausgangspunkt für weitere theoretische Erörterungen ist.

Versuche zur Feststellung des Einflusses von Kalk und Wasser auf die Vegetation der Reben.

Zunächst galt es, den Einfluß des Kalkes in verschiedenen Formen ohne Gegenwart von überschüssigem Wasser kennen zu lernen. Daran schließen sich die Versuche, in denen das Wasser vorherrschend wirksam ist, und zwar in Sandböden mit äußerst geringem Kalkgehalt und in Kalkköden. Die bei einem Ueberschuß von Wasser wirksamen Faktoren: die Verdünnung der Nährlösung, die Feuchtigkeit und der Sauerstoffmangel treten nach Möglichkeit getrennt wie auch vereint in Wirkung.

Als Versuchsobjekte wurden Stupferstecklinge benutzt, die im selben Jahre in Blumentöpfen von 14 cm Höhe und 16 cm oberem Durchmesser herangezogen worden waren. In jedem Topf befanden sich zwei solcher Rieslingstecklinge. Die Töpfe waren mit Erde verschiedener Zusammensetzung gefüllt, die vorher teilweise durch Mischen von Rheinsand mit gemahlener Kreide hergestellt wurde, teilweise kam der Rheinsand auch ohne Beimischung in Verwendung. Aus der nachstehenden Zusammenstellung ist die physikalische Beschaffenheit und der Kalkgehalt der benutzten Bodenarten ersichtlich:

No. der Bodenart	> 3 mm Proz.	Von 2—3 mm Proz.	Von 1—2 mm Proz.	Von 0,42—1 mm Proz.	Von 0,19—0,42 mm Proz.	Von 0,1—0,19 mm Proz.	< 0,1 mm Proz.	Abschlämmbar Proz.	Gehalt der Feinerde unter 1 mm an $CaCO_3$ Proz.
I	9,88	7,32	15,35	50,61	15,67	0,09	0,04	1,04	0,27
II	9,70	5,84	15,21	44,14	19,35	0,85	0,14	4,77	2,51
III	9,29	4,66	13,46	42,15	18,62	0,43	0,17	11,22	9,01
IV	9,73	4,12	10,33	41,41	17,24	0,69	0,30	16,18	12,87
V	8,15	5,02	8,63	37,70	16,81	0,82	0,57	22,30	17,56
VI	7,92	3,98	9,74	35,63	14,10	0,56	0,43	27,64	22,24
VII	8,35	4,37	9,16	33,09	11,14	0,84	0,62	32,43	27,40
VIII	6,90	3,89	12,78	25,80	12,18	0,97	0.58	36,90	30,03
IX	6,95	3,50	11,74	25,17	11,28	0,71	0,39	40,26	35,98
X	6,12	3,67	9,89	23,43	10,37	0,76	0,56	45,20	38,69
XI	4,87	2,77	9,83	21,46	9,10	0,63	0,41	50,93	41,72
XII	4,59	3,12	7,20	18,13	10,25	1,03	0,76	54,92	45,68
XIII	4,91	2,05	6,51	17,08	7,22	0,92	0,83	60,48	49,83

Die Versuchsobjekte wurden in einem Glashaus aufgestellt. Durch teilweises Hochstellen der Fenster wurde in dem Versuchsraum für genügende Ventilation gesorgt.

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

I. Versuch.
Beginn am 10. Juli 1906.

Lfd. No.	Vegetationsbedingungen	Länge der Triebe am 10. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 14. Sept. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Vegetationszustand am 14. Sept. 1906
1	1 Topf mit 2 Stecklingen in Bodenart I	26,5	18	44,5	49,5	28	77,5	33	74	Blätter grün
2	1 " " 2 " " " II	29	17,5	46,5	49	23,5	72,5	26	56	" "
3	1 " " 2 " " " III	24	20,5	44,5	43	32	75	30,5	69	Die oberen 3 Blättchen gelbgrün
4	1 " " 2 " " " IV	17	14	31	28	26	54	23	74	Blätter grün
5	1 " " 2 " " " V	20	12	32	41	30	71	39	122	" "
6	1 " " 2 " " " VI	24	1	25	54	9	63	38	152	" "
7	1 " " 2 " " " VII	21	11	32	46,5	28	74,5	42,5	133	" "
8	1 " " 2 " " " VIII	11	9	20	14,5	13,5	28	8	40	" "
9	1 " " 2 " " " IX	8,5	5,5	14	10,5	7	17,5	3,5	25	" "
10	1 " " 2 " " " X	6	1	7	15,5	2	17,5	10,5	150	" "
11	1 " " 2 " " " XI	11	3,5	14,5	14	7,5	21,5	7	48	" "
12	1 " " 2 " " " XII	11	3	14	20	5,5	25,5	11,5	82	" "
13	1 " " 2 " " " XIII	9,5	9,5	19	12,5	11	23,5	4,5	24	" "
14	1 " " 2 " " " XIV	12,5	11,5	24	14	12	26	2	8	" "
15	1 " " 2 " " " XV	7,5	7	14,5	14,5	8	22,5	8	55	Bei dem einen Stöckchen die oberen 2—3 Blättchen kaum merkbar chlorotisch marmoriert
					Mittel des proz. Zuwachses				74	

II. Versuch.
Beginn am 10. Juli 1906.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 10. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 14. Sept. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Vegetationszustand am 14. Sept. 1906
5 Töpfe mit je 2 Stecklingen und Bodenart I wurden zeitweilig (etwa jeden 3.—5. Tag) mit Wasser begossen, dem 10-proz. Schlämmkreide ($CaCO_3$) zugesetzt war	16	27	4,5	31,5	55	10	65	33,5	106	Blätter grün
	17	22	10	32	30	26	56	24	75	" "
	18	35,5	22	57,5	50	40	90	32,5	57	Die oberen 3-4 Blättchen etwas schwach chlorotisch marmoriert
	19	22,5	16,5	39	31	22	53	14	36	Blätter grün
	20	24	10	34	31,5	29	60,5	26,5	78	" "
					Mittel des proz. Zuwachses				70	

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

III. Versuch.
Beginn am 10. Juli 1906.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 10. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 14. Sept. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Vegetationszustand am 14. Sept. 1906
5 Töpfe mit je 2 Stecklingen und Bodenart I wurden zeitweilig (etwa jeden 3.—5. Tag) mit Wasser begossen, das 10 Proz. $CaCO_3$ enthielt, und in das vor der Benutzung $^1/_2$ Stunde lang CO_2 eingeleitet wurde	21	17	9	26	19	13	32	6	23	Blätter grün
	22	20,5	13	33,5	41	25,5	66,5	33	99	„ „
	23	23,5	17,5	41	28,5	19	47,5	6,5	16	„ „
	24	13	6	19	14	10	24	5	26	„ „
	25	34,5	21	55,5	38	26	64	8,5	15	„ „
								Mittel des proz. Zuwachses	36	

IV. Versuch.
Beginn am 10. Juli 1906.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 10. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 14. Sept. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Vegetationszustand am 14. Sept. 1906
5 Töpfe mit je 2 Stecklingen und Bodenart I wurden zeitweilig (jeden 3.—5. Tag) mit Wasser begossen, das durch einen geringen Zusatz (etwa 1 Proz.) von CaO schwach alkalisch gemacht wurde	26	21	2,5	23,5	35,5	4	39,5	16	64	Blätter grün
	27	14	11	25	23	16	39	14	56	„ „
	28	21	11,5	32,5	34	25,5	59,5	27	84	„ „
	29	17	16,5	33,5	19	18	37	3,5	10	„ „
	30	18	14,5	32,5	24	15	39	6,5	20	„ „
								Mittel des Proz. Zuwachses	47	

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

V. Versuch.

Beginn am 10. Juli 1906.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 10. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 14. Sept. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Vegetationszustand vom 14. Sept. 1906
5 Töpfe mit je 2 Stecklingen und Bodenart I wurden zeitweilig (jeden 3.—5. Tag) mit Wasser begossen, das durch 4-Proz. CaH_2O_2 zunächst schwach alkalisch und durch Zusatz von $FeSO_4$ wieder neutral gemacht worden war	31	25	20	45	38	26,5	64,5	19,5	43	Blätter grün
	32	10	8,5	18,5	26	21,5	47,5	29	157	„ „
	33	14	12,5	26,5	39,5	26	65,5	39	147	„ „
	34	15,5	14,5	30	25,5	20,5	46	16	53	„ „
	35	16	16	32	29,5	25,5	55	23	72	„ „
								Mittel des proz. Zuwachses	94	

VI. Versuch.

Beginn am 11. Juli 1906.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 11. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 10. Aug. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Vegetationszustand am 10. August 1906	Bemerkungen
Je 1 Topf mit der Bodenart I, IV und VIII mit je 2 Stecklingen wurden bis über den Topfrand in fließendes Wasser (Wasserleitung) von 15—16° C eingestellt	36	30	25,5	55,5	41	33	74	18,5	33	Blätter blaßgrün, an der Triebspitze grünlichgelb	Wurzeln bei No. 36 noch ziemlich gesund, nur einige faule Spitzen; die Wurzelfäule nimmt bei No. 37 u. 38 bedeutend zu
	37	7,5	7	14,5	10	8,5	18,5	4	28	Desgl. in etwas verschärftem Maße	
	38	9,5	2	11,5	14,5	2,5	17	5,5	48	Blätter gelblichgrün, Triebspitzen gelblich	
								Mittel des proz. Zuwachses	36		

VII. Versuch.
Beginn am 11. Juli 1906.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 11. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 10. Aug. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Vegetationszustand
Je 1 Topf mit der Bodenart I, IV und VIII und je 2 Stecklingen wurde außen gegen Wasser abgedichtet und dann mit ständig fließendem Wasserleitungswasser umspült; die Temperatur innerhalb der Topferde schwankte zwischen 15—17° C	39	20	13	33	21	14,5	35,5	2,5	8	Blätter grün
	40	11	10,5	21,5	14	13	27	5,5	26	„ „
	41	4,5	4	8,5	10,5	8	18,5	10	118	„ „
								Mittel des proz. Zuwachses	51	

VIII. Versuch.
Beginn am 12. Juli 1906.

Für diesen Versuch wurden die einzelnen Töpfe mit den Stecklingen in einen größeren Topf eingegipst und nur oben und unten eine Zuführung in Form einer Glasröhre von 1/2 cm Durchmesser gelassen. Die untere Zuführung wurde mit der Leitung des Wasserstoffentwicklers (nach Kipp) verbunden, während die obere in ein Gefäß mit Wasser führte. Der Wasserstoff wurde aus chemisch reinem Zink und verdünnter Schwefelsäure dargestellt. Der Wasserstoffstrom wurde außerdem noch in zwei Vorlagen gereinigt. Die eine enthielt mit Kalilauge getränkte Bimssteinstückchen, die zweite war zur Hälfte mit einer Lösung von Kaliumpermanganat in Wasser angefüllt, letzteres hatte den Zweck, etwa vorhandenen Arsenwasserstoff zu binden.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 12. Juli 1906 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 10. Aug. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. d. anfängl. Länge	Länge der Triebe am 10. Sept. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Vegetationszustand am 10. Sept. 1906	Bemerkungen
2 Töpfe mit je 2 Stecklingen u. Bodenart I wurden mit je einem Wasserstoffentwickler verbunden, und ein über den anderen Tag wurde 30 Minuten lang Wasserstoff durch die Erde der Töpfe streichen lassen; Bewässerung mit ausgekochtem Wasser, das durch Wasserstoffgasdruck zugeführt wurde	42	23	14	37	24	14,5	38,5	1,5	4	24,5	14,5	39	Blätter grün	Eine Besichtigung der Wurzeln am 10. Sept. zeigte diese noch vollk. gesund, doch fehlten die weißen Wurzelspitzen fast ganz
	43	18,5	12	30,5	20,5	13,5	34	3,5	11	20,5	13,5	34	„ „	
								Mittel des proz. Zuwachses	8					

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

IX. Versuch.
Beginn am 12. Juli 1906.

Versuchsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 12. Juli 06 cm		Gesamtlänge cm	Länge der Triebe am 10. Juli 06 cm		Gesamtlänge cm	Gesamtzuwachs cm	Zuwachs in Proz. der anfängl. Länge	Länge der Triebe am 10. Sept. 1906 cm		Gesamtlänge cm	Vegetationszustand am 10. Sept. 1906	Bemerkungen
Durch 4 wie im vorh. Versuch eingegipste Töpfe mit je 2 Stecklingen u. Bodenart I, IV, VIII u. X wurde ein über den anderen Tag 20 Min. lang ein schwacher Kohlensäurestrom geleitet; Bewässerung mit ausgekochtem Wasser, das durch Kohlensäuredruck zugeführt wurde	44	21,5	16	37,5	22,5	16,5	39	1,5	4	23	16,5	39,5	Blätter grün, einige haben runde, dürre Flecken	Die Wurzeln wurden nur bei No. 46 untersucht, Befund wie bei Versuch VIII, doch einige neugebildete Wurzelspitzen
	45	10	1	11	12	1	13	2	18	12	1,5	13,5	Blätter grün, einige haben dürre Randspitzen	
	46	8	2,5	16,5	10,5	3,5	14	2,5	15	11	3,5	14,5	Blätter an einem Stock bis auf die Spitzenblättchen abgefallen, bei den anderen gesund	
	47	8	5	13	10,5	5	15,5	2,5	19	11	5	16	Blätter grün, einige haben dürre Ränder	
	Mittel des proz. Zuwachses								14					

X. Versuch.
Beginn am 12. Juli 1906.

Vegetationsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 12. Juli 06 cm		Länge der Triebe am 10. Aug. 06 cm		Vegetationszustand am 10. Aug. 06	Bemerkungen
Je 1 Topf mit Bodenart I, III, VII und X und je 2 Stecklingen kam in ausgekochtes Wasser, das am folgenden Tage mit Oel übergossen wurde; die Oelschicht reichte bis 1—2 cm unterhalb der Ansatzstelle des Triebes	48	29	12	46,5	19,5	Triebspitzen noch ziemlich gesund, etwas fahlgrün, die 4 untersten Blätter gelblichgrün	Eine Besichtigung der Wurzeln zeigte, daß dieselben bei No. 48 noch ziemlich gesund waren, nur die Spitzen waren faulig; die Fäulnis der Wurzeln zeigte sich schon mehr bei No. 49 u. 50; bei No. 51 waren alle Wurzeln faul
	49	10	10	16	14,5	Blätter sämtlich gelblich mit dürren Randstellen	
	50	16,5	6	21	6,5	Wie vorher, die Vergilbung noch schärfer ausgeprägt, die unteren 3 Blätter gedörrt und abgefallen	
	51	7	1,5	+	+	**Beide Stöckchen eingegangen, die Blätter wurden vorher welk und dürr und fielen ab**	

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

XI. Versuch.

Beginn am 16. Juli 1906.

Vegetationsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 12. Juli 06 cm		Länge der Triebe am 10. Aug. 06 cm		Vegetationszustand am 10. Aug. 1906	Bemerkungen
Je 1 Topf mit der Bodenart I, III, VII und X und je 2 Stecklingen wurde behandelt wie in Versuch X, dem Wasser wurde eine Nährlösung zugesetzt, bestehend aus: 1 g $NaNO_3$, 0,25 g KCl, 0,25 g $MgSO_4$, 0,25 g KH_2PO_4 } pro 1 l Wasser	52	37,5	17,5	44	19	Beide Stöckchen noch ziemlich gesund	Bei No. 52 war das Wurzelwerk noch ziemlich gesund, Spitzen zumeist faul, von No. 53—55 zunehmende Wurzelfäule
	53	13,5	11	17,5	13,5	Die Blätter fangen an zu vergilben, einige zeigen dürre Ränder	
	54	6,5	4	14	+	Die unteren Blätter zumeist gelb; ein Stöckchen bereits abgestorben	
	55	15,5	7	+	+	Beide Stöckchen eingegangen	

XII. Versuch.

Beginn am 16. Juli 1906.

Vegetationsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 15. Juli 06 cm		Länge der Triebe am 10. Aug. 06 cm		Vegetationszustand am 10. Aug. 1906	Bemerkungen
Je 1 Topf mit der Bodenart I, III, VII und X und je 2 Stecklingen wurde behandelt wie in Versuch X, dem Wasser wurde 1 Prom. $NaNO_3$ zugesetzt	56	34	13	41	17	Triebe und Blätter noch ziemlich gesund	Die Wurzeln zeigten Fäulniserscheinungen, die besonders in der kalkreicheren Erde größeren Umfang hatten
	57	12	6	13	7,5	Die Blätter fangen am unteren Teile der Triebe an zu vergilben, einige sind schon abgefallen	
	58	20	12,5	24,5	14	Ein Stöckchen wie vorher, das andere etwas mehr gelb	
	59	11,5	7	+	+	Eingegangen	

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

XIII. Versuch.
Beginn am 12. Juli 1906.

Vegetationsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 12. Juli 1906 cm		Länge der Triebe am 10. Aug. 1906 cm		Vegetationszustand am 8. Aug. 1906	Bemerkungen
Je 1 Topf mit der Bodenart I, II, III, VII und X und je 2 Stecklingen wurde behandelt wie in Versuch X; dem Wasser wurde 1 Prom. Eisensulfat zugesetzt	60	15	11,5	18,5	14,5	Blätter zeigen noch ziemlich gesundes Aussehen, Spitze des Triebes blaßgrün	Wurzeln würden hier nicht untersucht
	61	11	9	16,5	12,5	Blätter zum großen Teil fahlgrün bis gelbgrün, die unteren mehr als die oberen, einige zeigen Randdürre	
	62	17	12,5	18,5	13	Blätter am unteren Teil des Triebes gelblich, einige schon abgefallen, ein Stöckchen fast ganz eingegangen, Randdürre	
	63	18	2	+	+	Beide Stöckchen eingegangen	

XIV. Versuch.
Beginn am 12. Juli 1906.

Vegetationsbedingungen	Lfd. No.	Länge der Triebe am 12. Juli 1906 cm		Länge der Triebe am 10. Aug. 1906 cm		Vegetationszustand am 10. Aug. 1906	Bemerkungen
Je 1 Topf mit der Bodenart I, III, VII und X und je 2 Stecklingen wurde behandelt wie in Versuch X, dem Wasser wurden einige Tropfen Eisenchlorid zugesetzt	64	31,5	18	49	24	Blätter beginnen zu vergilben, namentlich im unteren Teil der Triebe	Die Wurzeln der beiden abgestorbenen Stöcke erwiesen sich durchaus faul
	65	13	13	21	17	Desgleichen	
	66	10	1	14,5	+	Blätter sämtlich gelb, unten einige abgewelkt, ein Stock eingegangen	
	67	12	9	+	+	Beide Stöcke eingegangen	

Ad Versuch I. Dieser Versuch läßt in seinem Resultat deutlich erkennen, daß bei vollkommen intaktem Wurzelwerk der Kalk bei Riesling bis zu 50 Proz. $CaCO_3$ keine Chlorose erzeugt. Die einzelnen Fälle waren so wenig ausgeprägt, daß sie ohne Berücksichtigung gelassen werden können. Im allgemeinen hat ein geringer Zusatz von Kalk (bis etwa 17 Proz.) sich dem Wachstum förderlich gezeigt. Bei größeren Kalkmengen war das Wachstum der Triebe und auch der Wurzeln stark gehemmt, ohne daß aber Chlorose aufgetreten wäre.

Ad Versuch II. Hier gilt dasselbe wie ad I.

Ad Versuch III und IV. Chlorose trat auch hier nicht auf. Auffallend ist nur der geringe Zuwachsprozentsatz, der etwa nur die Hälfte von demjenigen von Versuch I und II beträgt. Ich stehe nicht an, diese Wachstumsverzögerung als eine Bewirkung der durch das Calciumhydrat und wahrscheinlich auch das Calciumbikarbonat veranlaßten geringeren Transpiration der behandelten Pflanzen anzusprechen, denn nach den Untersuchungen von Sachs und Burgerstein[1]) wird die Transpiration der Pflanzen durch alkalisch reagierendes Wasser herabgesetzt. Zwischen Transpiration und der Bildung organischer Substanz des Pflanzenkörpers besteht aber ein inniger Kausalnexus. Die geringere Transpiration fördert geringere Mengen von Nährsalzen nach den Assimilationsstätten, was eine Einschränkung der Bildung der plasmatischen Substanzen und des Chlorophylls zur Folge hat, die ihrerseits gleichsinnig die Kohlensäureassimilation beeinflussen.

Ad Versuch V. Bei Ansetzung dieses Versuches war der Gedanke leitend, daß eine allenfalls durch Alkalität der Bodenflüssigkeit hervorgerufene Chlorose durch Neutralisation des Bodenwassers vermittelst Eisensulfat im Entstehen gehindert werden könne. Da der Versuch IV nach der genannten Richtung negatives Resultat gab, so konnte naturgemäß eine solche Wirkung des Eisensulfates nicht eintreten. Wie weit der in diesem Versuche stark gestiegene Zuwachsprozentsatz mit der Neutralisation der Bewässerungsflüssigkeit oder mit anderen mit dem Eisensulfat oder dessen Umsetzungsprodukten in Kausalzusammenhang stehenden Vegetationsfaktoren in Verbindung gebracht werden kann, ist schwer zu sagen, hier auch von nebensächlicher Bedeutung. Es soll in diesen Versuchen den Angaben der Zuwachsprozente überhaupt keine große Bedeutung zugemessen werden, denn ihre Feststellung kommt für unsere Zwecke nur untergeordnet in Betracht, und die Zahl der Versuchsobjekte ist nicht hinreichend, um für die großen individuellen Schwankungen einen Ausgleich zu schaffen.

Ad Versuch VI. Das Vergilben der oberen Blätter ist hier wahrscheinlich in erster Linie als eine physiologische Wirkung der starken Verdünnung der Nährlösung anzusehen.

Ad Versuch VII. Dieser Versuch wurde nur zu dem Zwecke ausgeführt, um eine Beurteilung zu ermöglichen, inwieweit das Resultat bei Versuch VI durch die etwas niedrige Temperatur des Wasserleitungswassers beeinflußt wurde. Der günstige Vegetationszustand dieser Versuchsserie sprach gegen eine derartige Nebenwirkung.

Ad Versuch VIII und IX. Es wurde bei diesen Versuchen eine verhältnismäßig große Sauerstoffarmut in dem die Wurzeln umgebenden Boden erzielt, welches Gas in dem einen Falle durch Wasserstoff, in dem anderen durch Kohlensäure ersetzt wurde. Die Reben-

1) Burgerstein, A., Die Transpiration der Pflanzen. 1904. p. 141.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stecklinge blieben namentlich in Versuch VIII vollkommen gesund, auch in Versuch IX zeigte sich keine Chlorose, sondern nur gewisse Erscheinungen, wie teilweiser Blattfall, dürre Flecken und Blattranddürre, die auf die durch die Kohlensäure bewirkte Störung der Wurzeltätigkeit, besonders aber auf eine durch dieses Gas bedingte Hemmung des Wassertransportes in der Pflanze zurückgeführt werden dürfen[1]). Bei den Wasserstoffversuchen schlossen die Stecklinge nach ganz kurzer Zeit (etwa nach 4—5 Tagen) bereits ihren Trieb ab und stellten die Endknospe geradlinig in die Verlängerung der Triebachse. Die Beobachtung des wachstumhemmenden Einflusses des Wasserstoffgases habe ich bereits schon 1905 bei einem in gleicher Weise angeordneten Versuch gemacht. Dieser begann am 28. Aug. und währte bis 1. Okt. mit gleichem Resultate wie der eben genannte. Die Blätter blieben grün, und auch im folgenden Jahre (1906) zeigte das Versuchsstöckchen unter normalen Wachstumsbedingungen keine Chlorose; doch war die Triebkraft sehr geschwächt. Dieser Tatbestand steht im Einklang mit den Feststellungen Detmers[2]), daß die Zellen höherer Pflanzen in Berührung mit Wasserstoffgas nicht zu wachsen vermögen. Wir dürfen darin nun keine spezifische Wirkung des Wasserstoffgases erblicken, denn der Wasserstoff als solcher verhält sich bei diesem Vorgange durchaus indifferent. Nur dadurch, daß er den Sauerstoff aus der Bodenluft verdrängt, erreicht er jenen eben beschriebenen Effekt, da „mit der Entziehung des Sauerstoffs das Wachstum sogleich stillsteht“ [Pfeffer[3])].

Die Pflanze bedarf des Sauerstoffs zur Atmung ebenso wie der tierische Organismus. Es atmen sowohl die oberirdischen als auch die unterirdischen Organteile des Pflanzenkörpers. Schon im Jahre 1805 wurde durch den Genfer Naturforscher de Saussure[4]) nachgewiesen, daß die Wurzeln Sauerstoff aufnehmen und später wurde erkannt, daß das Sauerstoffbedürfnis der Wurzeln der Landpflanzen wohl in manchen Fällen größer ist wie das der oberirdischen Pflanzenteile[5]). Durch Traube[6]) wurde 1859 gezeigt, daß die Wurzeln beim Fehlen des Sauerstoffs ihr Wachstum einstellen.

Für uns ist in unseren Versuchsergebnissen vor allem die Tatsache von besonderem Interesse, daß Sauerstoffmangel an sich unter den gegebenen Verhältnissen weder Chlorose hervorgerufen hat, noch diese nachwirkend im folgenden Jahre erzeugte. Wir müssen deshalb die Ansicht Petits[7]), daß der Sauerstoffmangel im Boden die „unmittelbare“ Ursache der Chlorose der Reben sei, verneinen.

---

1) Vergl. Wolff, W., Schädlichkeit des Sauerstoffmangels und der Ansammlung von Kohlensäure. (Tageblatt d. 45. Naturf.-Versammlung zu Leipzig. 1872. p. 209.) — Kossaroff, P., Einfluß verschiedener äußerer Faktoren auf die Wasseraufnahme der Pflanzen. Diss. Leipzig, 1897. p. 144.

2) Detmer, W., Ueber die Einwirkung verschiedener Gase, insbesondere des Stickstoffoxydulgases auf Pflanzenzellen. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XI. p. 213.)

3) Pfeffer, W., Das Wesen und die Bedeutung der Atmung in der Pflanze. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. VII. p. 806.)

4) Zit. nach Müller-Thurgau. l. c. p. 1009.

5) Siehe Mayer, A., Die Ernährung der grünen Gewächse. 1901. Bd. I. p. 116.

6) Königl. Akademie der Wissensch. zu Berlin. 1859. p. 89 ff.

7) Petit, E., La chlorose, 1888. p. 35: „Les racines respirent. Si l'atmosphère immédiate des racines, confinée, est de volume trop restreint, elle se vicie d'autant plus, et il y a asphyxie relative des racines; si elle est supprimée, il y a forcement suppression de leur fonctions respiratoires, asphyxie complète. Tout porte à croire que la cause immédiate de la chlorose gît dans cette asphyxie.“

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Eine biologische Methode für die Bestimmung von Alkalikarbonaten im Erdboden.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **Harald R. Christensen**, Kopenhagen.

In einem im Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. II. Bd. XVII veröffentlichten Aufsatz hat Verf. auf Grund der dort referierten Untersuchungen angeführt, daß die Azotobacter-Vegetation nicht dazu im stande sei, Kalk in Form von Gips (schwefelsauren Kalk), Chlorcalcium und dreibasischen phosphorsauren Kalk auszunutzen. Die Untersuchungen wurden in der Weise angestellt, daß von einzelnen der Bodenproben, von denen es sich ergeben hatte, daß sie zu wenig Kalk enthielten, um in der Beijerinckschen Mannitlösung (20 g Mannit, 0,2 g Dicaliumphosphat, 1 l destilliertes Wasser) eine Azotobacter-Vegetation zu entwickeln, 5 g in eine Flüssigkeit transferiert wurden, die außer Mannit und Kaliphosphat auch eins der drei genannten Kalksalze enthielt. Die Flüssigkeit wurde danach mit ein wenig einer frischen Azotobacter-Rohkultur geimpft und bei einer Temperatur von 25° C in einem Thermostaten aufbewahrt. Nach einigen Tagen wurde der Grad der Azotobacter-Vegetation beobachtet[1]).

In späterer Zeit hat Verf. diese Untersuchung über das Verhältnis der verschiedenen Kalksalze zur Azotobacter-Vegetation fortgesetzt und hierzu eine ganze Reihe verschiedener Bodenproben benutzt, deren Kalkgehalt, wie im voraus unternommene Untersuchungen dargetan hatten, so gering war, daß sie nicht dazu im stande waren, in der erwähnten Mannit- und Kaliphosphatlösung eine Entwickelung einer Azotobacter-Vegetation hervorzurufen. Bei dieser Untersuchung hat es sich indessen herausgestellt, daß die Angabe, eine Hinzusetzung von Gips, Chlorcalcium und dreibasischem phosphorsauren Kalk könne keine Veranlassung geben zu einer Entwickelung einer Azotobacter-Vegetation, bei weitem nicht in allen Fällen stichhaltig sei, indem man, was einige der Bodenproben betrifft, sieht, daß die Hinzufügung dieser Kalksalze eine ähnliche kräftige Entwickelung von Azotobacter wie kohlensaurer Kalk hervorruft, während diese Salze bei anderen Böden nur eine ziemlich geringfügige, bei wiederum anderen — wie ursprünglich angegeben — gar keine Azotobacter-Vegetation hervorrufen. Wiederholte Kontrolluntersuchungen ergaben, daß hier von Zufall keine Rede sein kann, da man stets zu übereinstimmenden Resultaten gelangte.

Der Umstand, daß Gips (der bei dieser Untersuchung besonders angewandt wurde) und die übrigen genannten Kalksalze in einigen Fällen ausgenutzt werden, während sie in anderen Fällen unwirksam verbleiben, deutet darauf hin, daß der Kalk in diesen Verbindungen tatsächlich für die Azotobacter-Vegetation unzugänglich sei, und daß die beobachtete positive Wirkung bei mehreren Bodenproben dadurch erklärt werden muß, daß sie Stoffe enthalten haben, die eine größere oder geringere Menge des Kalkes in eine solche Form haben bringen können, daß der Kalk durch die Azotobacter-Vegetation hat assimiliert werden können.

Man mußte nun zunächst annehmen, daß diese aktivierenden Stoffe

---

1) Was das Detail der Ausführung dieser Untersuchungen betrifft, wird auf den genannten Aufsatz verwiesen.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kohlensaure Alkalien seien, die, indem sie mit den Kalksalzen in Wechselwirkung treten, einen Teil des Kalkes der Kalksalze in das Karbonat hinüberführen. Durch Zufuhr von ganz kleinen Mengen von Kalium- oder Natriumkarbonat zu einer Nährflüssigkeit mit Gips ergab sich denn auch, daß sich in allen Fällen eine kräftige Azotobacter-Vegetation entwickelt. Daß das verschiedene Verhältnis der einzelnen Böden diesem Kalksalz gegenüber wirklich auf Vorhandensein von Alkalikarbonaten beruht, wurde noch wahrscheinlicher dadurch, daß die von ihnen, die im stande waren, den Kalk des Gipses in eine für die Vegetation assimilierbare Form zu bringen, beinahe immer alkalisch reagierten, während diejenigen, mit denen dies nicht der Fall war, besonders unter den neutral-sauer reagierenden Böden angetroffen wurden.

Daß es nicht der Gehalt des Bodens an freier Kohlensäure ist, der den Umsatz in den Kalksalzen veranlaßt hat, geht daraus hervor, daß Bodenproben, die seit langer Zeit lufttrocken waren, dasselbe Verhältnis ergeben wie frische, feuchte Proben.

Es scheint somit, als könne man durch dies verschiedenartige Verhältnis dem Gips gegenüber einen Ausdruck gewinnen für den Gehalt des Bodens an Alkalikarbonaten, und die mehr oder minder kräftige Vegetation, welche die einzelnen Böden hervorzurufen im stande sind, ist denn auch ein einigermaßen zuverlässiger Ausdruck für die Quantitäten, in denen diese Stoffe vorkommen.

Da Alkalikarbonate stark alkalisch reagieren und sich ihrer leichten Löslichkeit wegen sehr leicht und schnell mit Säuren umsetzen, bedeutet ihr Vorhandensein, daß die Bodenprobe trotz ihres geringen Gehaltes an kohlensaurem Kalk[1]) keine freien Säuren enthält, deren unheilvoller Einfluß auf den Stoffumsatz im Erdboden wohlbekannt ist, und die in Frage stehende Methode dürfte somit von nicht geringem Interesse sein, um so mehr, da eine chemische Bestimmung dieser Stoffe — bei den sehr geringen Quantitäten, in denen sie normaliter in gewöhnlicher Ackererde vorkommen — sehr unsicher ist.

Eine eingehendere Darstellung der hier besprochenen und noch nicht zum Abschluß gebrachten Untersuchungen wird später erscheinen, und zwar in einem größeren Aufsatz über mikrobiologische Bodenuntersuchungen.

1) Die Probe läßt sich naturgemäß nur mit solchen Böden anstellen, die zu wenig kohlensauren Kalk enthalten, um eine Azotobacter-Vegetation zu entwickeln.

Inhalt.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber den Käsefehler „kort" (kurz), p. 690.

Christensen, Harald R., Eine biologische Methode für die Bestimmung von Alkalikarbonaten im Erdboden, p. 735.

Fischer, Hugo, Ueber den Unterschied zwischen lebender und lebloser Substanz, p. 656.

Garbowski, Ludwik, Ueber Abschwächung und Variabilität bei Bacillus luteus Smith et Baker (Bac. luteus sporogenes R. T. Wood Smith and Julian L. Baker) und Bacillus tumescens Zopf, p. 641.

Huss, Harald, Beitrag zur Kenntnis der Erdbeergeruch erregenden Bakterien, p. 661.

Krieg, Walther, Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces, p. 697.

Molz, Emil, Untersuchungen über die Chlorose der Reben. (Forts.), p. 715.

Weidemann, Carl, Morphologische und physiologische Beschreibung einiger Penicillium-Arten, p. 675.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 30. Oktober 1907.

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 24/25.

Nachdruck verboten.

Ueber Abschwächung und Variabilität
bei Bacillus luteus Smith et Baker und Bacillus tumescens Zopf.

[Aus dem botanischen Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. Arthur Meyer).]

Von Ing. Chem. Dr. **Ludwik Garbowski.**

Mit 2 Tafeln und 4 Figuren.

(Fortsetzung.)

In Fleischextrakt-Peptonbouillon (Zusammensetzung wie bei Fleischextrakt-Peptonagar) sind die ersten Keimungsanfänge nach 3—4 Stunden zu sehen. Nach 6 Stunden bemerkt man, daß das Wachstum der Keimstäbchen im Vergleich mit der Entwickelung auf der Oberfläche eines festen Nährbodens gehemmt ist. Die kaum 3 μ Länge messenden Keimstäbchen haben sich schon geteilt, bei den etwa 6 μ langen ist die Teilung schon zweimal eingetreten (Taf. I, Fig. 10). Dieses ist mehr an der Zahl der Einschnürungen am Keimstäbchen als an den Querwänden selbst, die sehr undeutlich sind, zu erkennen. Die Dicke der Keimstäbchen ist normal, 1,4—1,8 μ. Eine schwache Trübung der Flüssigkeit zeigt sich erst nach 24 Stunden. Mikroskopisch sind noch immer die in kurze Glieder zerfallenden Keimstäbchen vorhanden; ihre Zahl hat merklich zugenommen. Nach 48 Stunden erscheinen einige Formen mit kleinen Fetttröpfchen. Die längsten Individuen erreichen etwa 6—8 μ. Die fädigen Gestalten der Fleischextrakt-Peptonagarkultur fehlen hier ganz. Die Trübung der Kultur nimmt langsam zu. Nach weiteren 48 Stunden sind hauptsächlich fettreiche Einzelstäbe vorhanden; Sporangien kommen noch nicht vor. Am 5. oder 6. Kulturtage erscheinen auch die Sporen; vegetatives Wachstum dauert immer fort und die Kultur wird ganz undurchsichtig. Die Sporen stehen ihrer Größe und Form nach denjenigen vom festen Nährsubstrat derselben Zusammensetzung nahe. Die anfänglich fast neutral reagierende Flüssigkeit wird stärker alkalisch.

In einer Bouillonprobe, welche mit einer sehr kleinen Menge des Sporenmaterials von Bac. luteus geimpft wurde, habe ich eine merkwürdige krankhafte Entwickelung wahrgenommen. Eine sehr schwache Trübung war hier erst am 5. Entwickelungstage zu bemerken. Im Laufe der folgenden 2 Tage nahm sie sehr wenig zu. An folgenden Tagen wies die Flüssigkeit, anstatt sich noch zu trüben, eine schwache Opaleszenz auf, welche sich längere Zeit unverändert hielt. Am 10. Entwickelungstage zeigte die Kultur, mikroskopisch untersucht, eigentümliche, zu Reihen vereinigte kokkenartige Zerfallformen (Taf. I, Fig. 11). Von 0,8—1,0 μ im Durchmesser und rosenkranzförmig in Reihen angeordnet, sahen diese Schnürchen — besonders bei Betrachtung mit

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einem schwächeren System — täuschend den Streptococcus-Fäden ähnlich aus. Längs der Mittellinie der ganzen Reihe war ein heller Streifen sichtbar. Die Reaktion der Flüssigkeit war, wie gewöhnlich, alkalisch.

Ein ähnlicher Kokkenzerfall wurde von Matzuschita (1902) an einem „Proteus-artigen Luftbacillus“, von Hashimoto (1899) an dem von ihm „Bacterium Fraenkeli“ genannten Organismus, von Winogradsky (1902) an Clostridium Pastorianum beobachtet.

Folgende Tabelle gibt die Intensität der Entwickelung von Bac. luteus in den verschiedenen flüssigen Nährmedien an.

Intensitätstabelle[1]) für Bac. luteus.

0	I	I + M	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	3	4	0	0	3	2	3	3	3	4	4	0	0	3	0

Die Tabelle gibt das Resultat einer einmonatigen Entwickelung an.

Die Lösungen 0 II und VI sind sauer geworden, Vγ und Vδ waren etwas deutlicher alkalisch, andere besaßen neutrale oder schwach alkalische Reaktion.

Die Säureproduktion in der Nährlösung VI. 50 ccm der Nährlösung VI verbrauchten 1,7 ccm $^1/_{10}$-norm. HCl (Lackmus). Mit vegetativen Formen von Bac. luteus geimpft, nach 1-monatlicher Brutdauer bei 28°, verbrauchten:

50 ccm der Nährlösung VI: a) 7,0 ccm $^1/_{10}$-norm. NaOH (Lackmus); b) 6,8 ccm $^1/_{10}$ norm. NaOH (Lackmus).

Außer der weinsaures Ammon, Glycerin und Rohrzucker enthaltenden Nährlösung VI habe ich für die Bestimmung der Säureproduktion von Bac. luteus noch eine Nährlösung angewandt, welche dieselbe Zusammensetzung wie VI hatte, nur des Rohrzuckers entbehrte. 50 ccm dieser 1 Proz. Ammoniumtartrat und 1 Proz. Glycerin neben den üblichen Salzen (Mineral. Nährlösung Gottheil) enthaltenden Nährlösung verbrauchten 2,2 ccm $^1/_{10}$ norm. HCl (Lackmus). Mit vegetativen Formen von Bac. luteus geimpft verbrauchten je 50 ccm nach 6-wöchentlicher Entwickelung bei 28°:

a) 5,0 ccm $^1/_{10}$ norm. NaOH (Lackmus)
b) 5,5 „ „ „ „
c) 5,4 „ „ „ „

Die Nährlösung bleibt ungefärbt und geruchlos. Der Pilz entwickelt sich in ihr stark und bildet einen mächtigen weißen Bodensatz.

Zur Bestimmung der Produktion von Alkali wurde eine Nährlösung angewandt, welche 1 Proz. KNO_3 und 1 Proz. Glycerin in der mineralischen Nährlösung gelöst enthielt. 50 ccm verbrauchten 2,5 ccm $^1/_{10}$ norm. HCl (Lackmus). Mit vegetativen Formen von Bac. luteus geimpft, verbrauchen 50 ccm nach 4-wöchiger Entwickelung bei 28°:

a) 7,3 ccm $^1/_{10}$ norm. HCl (Lackmus).
b) 6,9 „ „ „
c) 7,6 „ „ „

---

1) Die Zusammensetzung der Nährlösungen, ebenso wie die Bedeutung der Intensitätszahlen sind dieselben wie bei Gottheil (Bot. Beschreibung etc. 1902).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es entsteht anfangs ein graues Sediment, verschwindet aber allmählich, indem zugleich die Flüssigkeit sich zu färben beginnt. Schließlich ist sie deutlich gelbbraun gefärbt, weist nur eine schwache Trübung auf und besitzt einen unangenehmen Geruch nach zersetztem Leim.

Gelatine wird durch Bac. luteus langsam verflüssigt.

Diastasebildung. Zum Nachweis der Diastasebildung bin ich nach dem von Gottheil (S. 20) angegebenen Verfahren vorgegangen. Als Kulturflüssigkeiten habe ich die Nährlösungen VI und VII und die eben erwähnten Salpeter-, Glycerin- und Ammoniumtartrat-Glycerin-Nährlösungen angewandt. Eine schwache Diastasebildung konnte nachgewiesen werden.

Sehr deutlich läßt sich die stärkelösende Wirkung der Kulturen durch folgendes Verfahren nachweisen: zu der 1 Proz. KNO_3 enthaltenden mineralischen Nährlösung wurde als einzige Kohlenstoffquelle etwas Stärkelösung zugefügt und die Flüssigkeit mit vegetativen Formen von Bac. luteus geimpft. Schon am dritten Tage bei 28° verschwindet die Stärke vollständig, während die Kontrollproben intensive Färbung mit J+JK geben.

Die Tötungszeit der 1 Monat alten Sporen von Bac. luteus bei 100°:

Versuch a	Versuch b
2' + + +	2' + + +
3' + — —	3' + + —
4' + + —	4' — — —
5' + — —	5' + — —
6' — — —	6' — — —

Das Maximum der Tötungszeit liegt somit zwischen 5—6 Minuten.

II. Ueber Farbstoffproduktion und Sporenbildung bei Bac. luteus.

1. Einfluß der Reaktion des Nährbodens. Entwickelung auf mineralischem Nähragar.

Die Bedingungen der Farbstoffproduktion bei Bakterien und Pilzen wurden von Wasserzug, Laurent, Gessard, Beijerinck, Sullivan, Milburn, Fleroff, Caminiti u. A. untersucht.

Wie jede physiologische Leistung, so ist auch die Farbstoffproduktion von den verschiedenen Lebensbedingungen, wie Temperatur, Licht, Sauerstoffzutritt, chemische Zusammensetzung des Nährbodens etc. abhängig. Von besonderer Bedeutung auf das Farbstoffbildungsvermögen und die Art des erscheinenden Farbstoffs hat sich die chemische Reaktion des Nährbodens erwiesen (Milburn 1904, Fleroff 1903).

Zu den Organismen, deren Farbstoffproduktion (und zugleich Sporenbildung) sehr streng an eine bestimmte Reaktion des Nährbodens gebunden ist, gehört auch Bac. luteus. Bei der Beschreibung seiner Entwickelung in flüssigen Nährmedien habe ich schon bemerkt, daß er in einer Ammoniumtartrat-Glycerin-Nährlösung üppig, aber ohne jegliche Farbstoffausscheidung sich entwickelt, daß dagegen eine Salpeter-Glycerin-Nährlösung, in welcher der Pilz ebenso gut gedeiht, nach einer bestimmten Zeit intensiv braungelb gefärbt wird. Die erste dieser Nährlösungen wird durch die Lebenstätigkeit des Pilzes sauer, die zweite alkalisch.

Noch anschaulicher tritt dieser Unterschied zutage, wenn man die erwähnten Nährlösungen in Agar aufnimmt und den Organismus sich oberflächlich entwickeln läßt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es wurden folgende Nährmedien dargestellt:

a) Salpeter-Glycerin-Agar: mineralische Nährlösung mit 1 Proz. KNO_3 und 1 Proz. Glycerin versetzt.

b) Salpeter-Zucker-Agar: mineralische Nährlösung mit 1 Proz. KNO_3 und 1 Proz. Rohrzucker.

c) Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar: mineralische Nährlösung mit 1 Proz. Ammontartrat und 1 Proz. Glycerin.

d) Ammoniumtartrat-Zucker-Agar: mineralische Nährlösung mit 1 Proz. Ammoniumtartrat und 1 Proz. Rohrzucker.

Die Reaktion dieser Nährmedien ist schwach alkalisch (Lackmus).

In dichten Aussaatkulturen erfolgte Keimung auf allen erwähnten Nährmedien im Lauf der vierten resp. fünften Stunde nach der Aussaat (Temp. 28°).

Nach Verlauf von 24 Stunden konnte man in den KNO_3 enthaltenden Kulturen das Auftreten der ersten Sporangien beobachten, während die Ammoniumtartratkulturen nur rein vegetatives Wachstum zeigten. Auch die Formen der vegetativen Entwickelung selbst wiesen in beiden Kulturreihen charakteristische Unterschiede auf: auf dem Salpeteragar waren mehr fadenförmige Gestalten vorhanden, einige gekrümmt, die Teilungsstäbchen bei der Trennung rundeten sich in üblicher Weise an der Teilungswand ab, dicke Schwellformen kamen nicht vor (Taf. I, Fig. 12). Auf Ammoniumtartratagar waren längere Fäden gar nicht zu sehen; es kamen hauptsächlich zweierlei Morphoden zum Vorschein: kurze, meist noch in Reihen zu 4 bis 6 liegende Stäbchen, mit kantigen Abgrenzungsflächen, wie durch Zerschneiden eines längeren Stäbchens entstanden und neben ihnen, oft am Ende der ganzen Reihe, angeschwollene, dicke, unregelmäßig begrenzte Gestalten, deren Dicke bis 2,2—2,4 μ betrug (Taf. I, Fig. 13), während die Fadendicke auf Salpeteragar selten 1,2 μ übersteigt. Die kurzen Reihenoidien werden in einem gewissen Entwickelungsstadium dunkel, undurchsichtig. Bald trennen sie sich voneinander, runden ihre freien Enden ab, schwellen mehr oder weniger an und bekommen einen körnigen Inhalt.

Nach 48 Stunden besteht die Kultur hauptsächlich aus solchen fettreichen Ruhestäbchen und Schwellformen; die dunklen Stäbchen sind immer weniger zahlreich vertreten. Bei der weiteren Entwickelung der Ammoniaksalzkulturen ist nur das Verschwinden von Fett aus dem Stäbcheninhalte zu konstatieren, an dessen Stelle zahlreiche kleine Vakuolen übrig bleiben (Taf. I, Fig. 14). Sporenbildung trat auch nach 3 Monaten trotz zahlreicher Umimpfungen nicht ein. Wurde aber der Organismus auf den gewöhnlichen Fleischextrakt-Peptonagar übergeimpft, so trat Sporenbildung in der normalen Zeit (nach 16—20) Stunden unfehlbar ein [1]).

---

1) Durch Uebertragen der vegetativen Formen von Bac. subtilis und Bac. tumescens aus einer Nährlösung in Wasser konnte Buchner (1890) das Eintreten der Sporenbildung um einige Stunden beschleunigen. Schreiber (1896) „gelang es auf diese Weise den Subtilis und Tumescens etwa nach der dritten Teilung zu Sporenbildung zu veranlassen".

Es war interessant, das Verhalten des auf Ammoniumtartratagar gezüchteten, an der Sporenbildung durch das sauer gewordene Nährmedium verhinderten Bac. luteus in ähnlichen Verhältnissen zu untersuchen. Es hat sich gezeigt, daß die Stäbchen, welche auf dem erwähnten Nährboden ausgewachsen waren, in keinem Fall selbst zu Sporangien wurden. Stäbchen, welche von 14 Stunden, 24 Stunden oder 5 Tage alten Kulturen stammen, verhalten sich in dieser Beziehung gleich. Werden einige Oesen des Kulturmaterials in ein paar Tropfen sterilen Wassers in ein kleines Reagenzgläschen

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Anders verläuft die Entwickelung in den Salpeteragarkulturen. Auf Salpeter-Glycerin-Agar kamen die Sporen zuerst zur Ausbildung: nach 96 Stunden bestand die Kultur in der Hauptsache aus ausgereiften freien, Sporen, neben welchen meist entfettete verkümmerte Reste der steril gebliebenen vegetativen Formen noch zu sehen waren. Nach weiteren 48 Stunden verschwanden diese fast vollständig. In der Salpeter-Zuckerkultur trat die Sporenbildung nicht nur später, sondern auch viel spärlicher ein. Nach 120 Stunden waren die vegetativen Formen in der Kultur noch vorherrschend. Verhältnismäßig wenige von ihnen haben Sporen gebildet; die meisten gehen allmählich zu Grunde: ihr Inhalt verschwindet, sie werden transparent, schließlich sind sie kaum mehr zu sehen. Nach 7 Tagen sind auch hier nur die kleinen Sporen deutlich zu unterscheiden.

Nicht weniger charakteristisch als die mikroskopische Entwicklung ist das makroskopische Aussehen der in Rede stehenden Kulturen. In den Ammoniumtartratkulturen ist der Bakterienüberzug weiß, die Agarschicht verändert sich nicht, das Kondenswasser bleibt ungetrübt, nur am Boden ist ein weißes Bakteriensediment vorhanden. Die Reaktion des Kondenswassers ist deutlich sauer geworden. Anfänglich unterscheiden sich die Salpeterkulturen von den eben besprochenen nicht; ihre Vegetation ist auch von schmutzigweißer Farbe, an der Oberfläche schwach glänzend, an der Grenzlinie (in einer Strichkultur) deutlich markiert. Aber nach 2—3 Tagen bekommt die Farbe einen Stich ins Gelbe, dann werden die Kulturen ausgesprochen crêmefarbig. Am prägnantesten ist der Unterschied im Aussehen der Kulturen nach dem Ausreifen der Sporen, etwa nach einer Woche: die Sporenfläche ist schwach braun gefärbt, der Agar in der ganzen Schicht auch etwas gebräunt; das Kondenswasser, welches in der Periode der vegetativen Entwickelung

---

übertragen und bei 28° weiter kultiviert, so bemerkt man im Laufe der ersten Stunden das Eintreten gewisser Aenderungen im Innern der Stäbchen; die Vakuolen verschwinden, der Inhalt wird gleichmäßiger. Die Stäbchen verbleiben in Ruhe als weiße Flöckchen auf dem Boden des Kulturröhrchens. Nach 24 Stunden bemerkt man, daß einige von ihnen sich geteilt haben und Fettkügelchen aufweisen. Die Vertreter dieser neuen Generation sind in der Masse der alten Formen sofort daran zu erkennen, daß sie schlanker sind und nicht selten Schwärmer darstellen, während viele von den alten Formen offenbar im Absterben begriffen sind; sie werden immer durchsichtiger und bald sind an einigen kaum noch die Umrisse erkennbar. So differenziert sich der Inhalt in zwei Teile; der eine lebt auf Kosten des anderen. Am dritten Tage kann man eine leichte alkalische Reaktion feststellen. Die überlebenden Indviduen wachsen fadenförmig in die Länge. Am vierten Tage kommen unter ihnen Sporangien vor (Taf. I, Fig. 15). Die Reaktion wird immer mehr alkalisch und die Flüssigkeit bekommt eine schwach gelbliche Färbung.

Man sieht, daß die Zellen, um zu Sporangien zu werden, einen Verjüngungsprozeß durchmachen. Jede Umimpfung auf einen frischen Nährboden ist mit einer solchen Verjüngung der Kultur verbunden (Art. Meyer 1901). Bei den successiven Umimpfungen von Bac. luteus auf Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar konnte ich direkt beobachten, wie die mit Vakuolen versehenen Ruhestäbchen der alten Kultur auf frischem Nährboden zuerst gleichförmig werden, dann in die Länge wachsen, sich teilen und zu schwärmen beginnen. Die Schwärmer teilen sich lebhaft und kommen nach einer kurzen Zeit zur Ruhe. Erst diese Ruhestäbchen bilden — sozusagen — die Dauerform von Bac. luteus auf dem entsprechenden Nährmedium.

Nur durch diese immer von neuem eintretende Verjüngung läßt sich erklären, warum bei fortgesetzter Umimpfung auf frischen Nährboden in bestimmten Zeitintervallen die Sporenbildung beliebig lange hinausgeschoben werden kann. Schreiber vermochte auf diese Weise Bac. subtilis 4 Monate (69 Generationen) und Bac. tumescens 3 Monate (48 Generationen) in rein vegetativem Zustande zu erhalten. Fände bei der Umimpfung einfach ein „Weiterwachstum" statt, so wäre diese Erscheinung schwer zu erklären.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ständig durch die Bakterienvegetation getrübt war, besitzt deutlich alkalische Reaktion.

Das Eintreten der sauren Reaktion in den Ammoniumtartratkulturen ist es, welches die Farbstoffproduktion und die Sporenbildung von Bac. luteus verhindert. Setzt man dem Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar präzipitiertes Calciumkarbonat zu so wird auch hier der Bakterienüberzug crêmefarbig. Am 3. oder 4. Tage beginnt die Bräunung im oberen Teil und pflanzt sich allmählich nach unten fort. Nach Verlauf von noch 2 Tagen ist nur über dem Kondenswasser ein gelber Streifen geblieben, sonst ist die ganze Bakterienfläche gleichmäßig schwach bräunlich gefärbt und besteht in der Hauptsache aus reifen Sporen.

Die Sporen, welche auf dem neutralen Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar zur Ausbildung kommen, sind sogar besser entwickelt, als die von Salpeter-Glycerin-Agar; das folgt aus dem Vergleich folgender Variationstabellen ihrer Längendimension.

Neutral. Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar

μ	Individuenzahl
0,6	1
0,8	6
1,0	23
1,2	37
1,4	27
1,6	4
1,8	2
M = 1,21 μ	

Salpeter-Glycerin-Agar

μ	Individuenzahl
0,4	2
0,6	12
0,8	27
1,0	23
1,2	28
1,4	6
1,6	2
M = 0,98 μ	

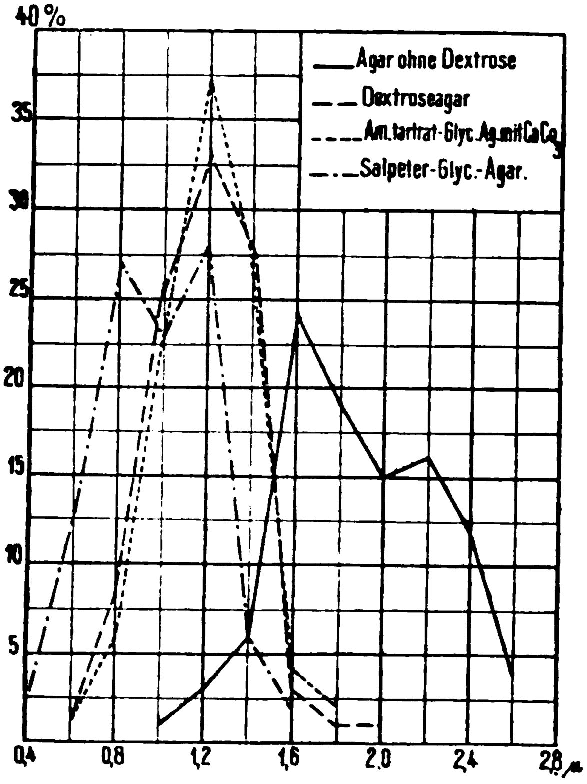


Fig. 1.

Eine graphische vergleichende Zusammenstellung der Größenverhältnisse der von Bac. luteus auf verschiedenen Nährmedien gebildeten Sporen gibt die nebenstehende Figur an.

Man sieht, daß sich die Kurven für Dextroseagar und neutralen Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar fast decken; auch die Medianen für diese zwei Kurven sind fast identisch (1,20 und 1,21 μ); während einerseits die kleinen Sporen der Salpeter-Glycerinkultur, andererseits die großen der dextrosefreien Agarkultur Extreme bilden; der für beide gemeinschaftliche Teil der Koordinatenebene ist sehr klein.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2. Einfluß der Alkalität des Nährbodens. Entwickelung auf alkalischem Fleischextrakt-Peptonagar.

Nachdem sich die alkalische oder neutrale Reaktion des Nährbodens als erste Bedingung für die Farbstoffproduktion und für das Eintreten der Sporenbildung bei Bac. luteus erwiesen hat, bin ich dazu übergegangen, den Einfluß des Alkalitätsgrades im Nährmedium auf die genannten Funktionen zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke wurden die je 7,5 ccm neutralen Fleischextrakt-Peptonagar enthaltenden Röhrchen mit Sodalösung versetzt, und zwar mit 0,05—0,1—0,2 ccm einer 1-proz. (I) und mit 0,1—0,2—0,3—0,5—1,0 und 1,5 ccm einer 5-proz. (II) $Na_2CO_3 + 10\ H_2O$-Lösung, und das Sporenmaterial von Bac. luteus mittels Platinöse auf der Oberfläche in üblicher Weise ausgestrichen. Parallel wurde ein Agarröhrchen ohne Sodazugabe auf dieselbe Weise mit dem gleichen Sporenmaterial geimpft und untersucht.

Es ergab sich:

1) Die Alkalizugabe schon in der Menge von 0,05 ccm einer 1-proz. Lösung beeinträchtigt die Sporenbildung. Nach 48 Stunden bestand die nicht mit Alkali versetzte Kultur hauptsächlich aus Sporangien und Sporen, neben wenigen sterilen Formen[1]), während in I 0,05 selten Sporangien und nur ausnahmsweise reife Sporen zu finden waren. Noch nach 96 Stunden waren in der letzteren Kultur vegetative Formen reichlich vertreten, man konnte selbst Schwärmer noch sehen, während auf neutralem Agar die Ausreifung schon längst eingetreten war. Aeußerlich unterschieden sich beide Kulturen auch in Bezug auf die Stärke der Entwickelung gar nicht voneinander. Wohl war dies bei der Kultur I 0,1 zu sehen: die Bakterienschicht entwickelte sich viel kräftiger, sie war auch intensiver gelb gefärbt. Die anfangs schwach gelbe Farbe trat erst nach 48 Stunden deutlicher hervor und dauerte noch etwa 2–3 Tage, wonach sie allmählich durch eine schmutzig-bräunliche ersetzt wurde. In der farbigen Periode der Entwickelung besteht die Kultur aus fettreichen Ruhestäbchen, von denen die einen sich lebhafter teilen und etwas verdickte Gestalt annehmen (Taf. I, Fig. 16), die anderen sich fadenförmig entwickeln und nur spärlich geteilt werden. In den letzten kommen die Sporen zuerst zum Vorschein. Sie sind — entsprechend der Gestalt des Sporangiums — sehr lang und verhältnismäßig dünn (Taf. I, Fig. 17). Am 5. oder 6. Tage setzt die Sporenbildung ziemlich allgemein ein, sobald sich die Verfärbung der Kultur bemerkbar macht (Taf. I, Fig. 18).

Bei den Sporen zeigt sich sehr deutlich ein Dimorphismus, was die folgende tabellarische Zusammenstellung der Längen von 100 Individuen veranschaulicht:

μ	Individuenzahl
0,6	3
0,8	10
1,0	13
1,2	38
1,4	14
1,6	5

$M_1 = 1,18\ \mu$

μ	Individuenzahl
2,0	1
2,2	3
2,4	6
2,6	2
2,8	1
3,0	2
3,2	2

$M_2 = 2,45\ \mu$

1) Im Vergleich mit dem oben beschriebenen Entwickelungsgang auf demselben Nährboden ist hier eine Verspätung eingetreten, verursacht durch das Erhitzen der Aussaatsporen während 0,5 Minuten auf 100°. Da aber sämtliche Röhrchen mit demselben Sporenmaterial geimpft wurden, so sind die Resultate der Kultur vollständig miteinander vergleichbar.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die dieser Zahlenreihe entsprechende Variationskurve hat einen unregelmäßigen Verlauf. Sie besitzt zwei Kulminationspunkte: der eine liegt nahe bei 1,2 μ, der andere bei 2,4 μ. Die Bestimmung einer einzigen gemeinschaftlichen Mediane hätte hier keinen Wert. Ich habe deshalb die Kurve in zwei Abschnitte zerlegt (s. Fig. p. 745): der eine umfaßt die mehr rundlichen Sporen von 0,6—1,6 μ Länge, welche 83 Proz. der Gesamtmenge ausmachen, der zweite, viel kleinere Teil (17 Proz. der Gesamtzahl) umfaßt die längeren Individuen von 2,0—3,2 μ. Die Breite der ersten Gruppe variiert zwischen 0,6 und höchstens 1,2 μ, diejenige der zweiten zwischen 0,6 und höchstens 1,0 μ. Die theoretische Längenmediane für die erste Gruppe beträgt $M_1 = 1{,}18\ \mu$, diejenige der zweiten $M_2 = 2{,}45\ \mu$.

Wir sehen, daß die Alkalizugabe nicht nur zeitlich die Sporenbildung verschiebt (vielleicht infolge Begünstigung des vegetativen Wachstums), sondern daß sie auch in ganz charakteristischer Weise auf Gestalt und Größe der Sporen infolge Beeinflussung der vegetativen Entwickelung in morphologischer Hinsicht einwirkt.

Die höchste Alkalimenge, welche von dem Organismus vertragen wurde, betrug 0,5 ccm der Lösung II; die Proben II 1,0 und II 1,5 blieben steril.

Schon in der Probe II 0,1 konnte man eine gewisse Schwäche der Individuen konstatieren: sie zerfielen leicht unter Hinterlassung kleiner Fetttröpfchen, welche als winzige Körnchen von Zeit zu Zeit in den mikroskopischen Präparaten auftraten. Diese Erscheinung kam in den mehr alkalischen Kulturen noch mehr zum Vorschein und in der Probe II 0,5 machten die Zerfallkörner einen nicht unbeträchtlichen Teil des ganzen Pilzbelages aus. Außerdem kamen hier krankhafte gedrehte Formen reichlich vor. Bei der Sporenbildung, welche erst nach 6—7 Tagen eintrat, waren hauptsächlich die kurzen verdickten Formen zu sehen. Dementsprechend waren hier die langen bohnenförmigen Sporen nicht mehr vertreten. Sämtliche Sporen weisen die einheitliche rundliche Gestalt auf, sind verhältnismäßig klein und ihre Dimensionen gruppieren sich in eine regelrechte Variationskurve von normalem Bau mit einer einzigen Schwerpunktsordinate, was aus den folgenden Längenmessungen erhellt:

μ	Individuenzahl
0,6	1
0,8	3
1,0	19
1,2	37
1,4	18
1,6	13
1,8	7
2,0	2

$M = 1{,}25\ \mu$

Ich habe die Variationskurven für die Sporengröße (Länge) von Bac. luteus auf neutralem, schwach (I 0,1) und stark (II 0,5) alkalischem Agar nebeneinander in folgender Figur dargestellt.

(Siehe Figur 2 p. 745.)

Das Zusammenfallen des linken Teiles der Kurve für das schwächer alkalische Nährmedium mit derjenigen, welche die Sporendimensionen des stark alkalischen Agars abbildet, tritt sehr deutlich hervor.

2) Es ist schon bemerkt worden, daß die leicht alkalische Kultur I 0,1 in einem bestimmten Entwickelungsstadium deutlicher gefärbt erscheint.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Noch besser trat die Färbung bei höherem Alkalizusatz auf und war am intensivsten in der Probe II 0,1. Die Farbe der Bakterienschicht nahm auch hier allmählich zu bis zum Eintritt der Fruktifikation und mit dem Fortschreiten dieser verschwand sie ebenso allmählich. Das Maximum der Färbung fällt auf den 2. oder 3. Entwickelungstag.

Die folgenden Kulturen von II 0,2 bis II 0,5 waren auch schwach gelblich gefärbt, standen aber in dieser Beziehung der Kultur II 0,1 nach. Ueberhaupt wirkte eine größere Alkalizugabe auf den Organismus nachteilig, was sich nicht nur in dem erwähnten leichten Zerfall der vegetativen Formen äußerte, sondern auch darin Ausdruck fand, daß während in den schwach alkalischen Proben bis I 0,2 ebenso wie in der neutralen Kultur der Bakterienüberzug die ganze besäte Fläche lückenlos bedeckte, auf dem stärker alkalischen Agar nur einzelne Kolonieen zur Entwickelung kamen. Ihre Zahl betrug am zweiten Entwickelungstage auf der Kultur II 0,1 fünfzehn, auf II 0,3 und II 0,5 je eine resp. zwei. Damit steht im Zusammenhange, daß das Schwärmerstadium in den stärker alkalischen Proben deutlicher zum Vorschein kam und länger dauerte, mit Ausnahme der Grenzkultur II 0,5, welche in jeder Beziehung eine krankhafte Entwickelung aufwies.

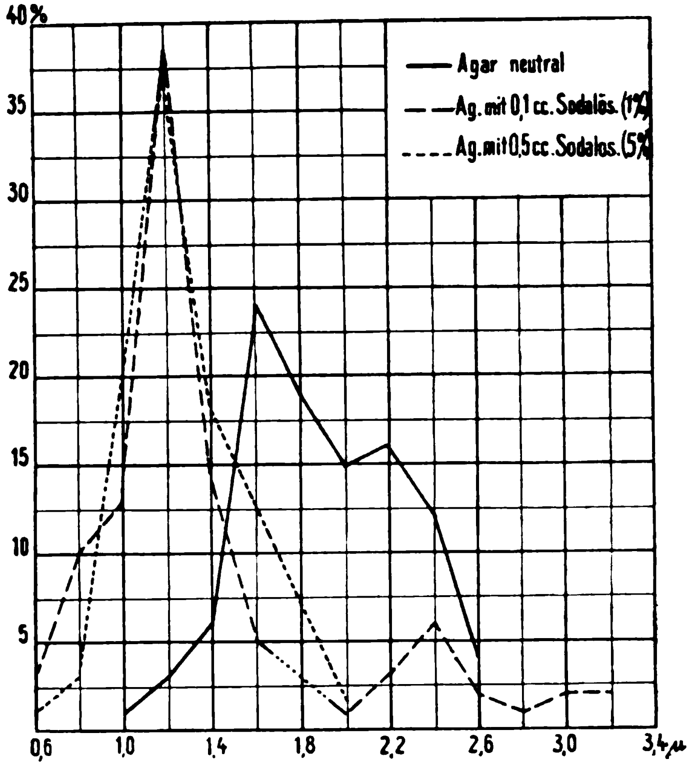


Fig. 2.

3. Entwickelung auf Kasein. Stellung von Bac. luteus unter den farbstoffbildenden Bakterien.

In einer schwach alkalischen Kaseinlösung fand Fleroff ein vorzügliches Nährmedium für die Farbstoffproduktion von Penicillium purpurogenum. Es schien mir daher angezeigt, auch das Verhalten von Bac. luteus in diesem Medium zu untersuchen.

5 g Kasein Hammarsten wurden in 500 ccm Wasser unter Erwärmen aufgelöst und mit 1 Proz. Sodalösung schwach alkalisch gemacht. Diese Lösung wurde in 1,6 Proz. Agar aufgenommen und nach dem Erhitzen filtriert.

Ebenso in der Kaseinlösung, wie auf Kaseinagar kommt Bac. luteus zur Entwickelung. Eine Begünstigung der Farbstoffproduktion ist aber nicht zu bemerken. Auf Kaseinagar keimen die Sporen nach 2—3 Stunden und kommt eine üppige Entwickelung zu stande, welche aber ziemlich lange vegetativ bleibt. Selbst nach 3 Wochen sind die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sporangien nur selten vertreten. Am dritten Entwickelungstage zeigt der Bakterienüberzug eine schwach gelbliche Färbung. Deutlicher ist die Färbung des Kaseinagars selbst unter dem Pilzbelag. Das Hineindiffundieren des Farbstoffes läßt sich auch hier besser in einer Stichkultur beobachten. Diese Erscheinung kommt, wie oben erwähnt, in einer gewöhnlichen Agarstichkultur auch zum Vorschein und sogar besser, weil die Färbung im letzteren Falle von reinerem Gelb ist.

Unter den farbstoffbildenden Bakterien nimmt Bac. luteus eine exceptionelle Stellung deshalb ein, weil er einen weder in Wasser noch in Alkohol, noch in den üblichen Fettlösungsmitteln löslichen gelben Farbstoff enthält. Ob hier der Farbstoff „als nutzloses Exkretionsprodukt" anzusehen ist, oder welche biologische Bedeutung er eventuell hat, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden.

Wie es Wasserzug (1887) bei Bac. pyocyaneus tut, könnte man auch hier zwei Entwickelungsperioden des Organismus unterscheiden: die anfängliche farblose Ausbreitungsperiode und die Periode der Farbstoffsekretion. Die letztere bleibt auf Ammoniumtartratagar aus.

Die rein weiße und vollständig der Sporenbildung entbehrende Entwickelung auf Ammoniumtartratagar spricht für einen Zusammenhang der beiden Erscheinungen: Farbstoffproduktion und Sporenbildung. Ebenso für diesen Zusammenhang spricht das Erscheinen einer deutlicheren Färbung auf Dextroseagar eben vor dem Eintreten der Fruktifikation. Dasselbe, wenn auch nicht so deutlich, tritt übrigens bei der Entwickelung des Bacillus auf einem beliebigen Nährboden ein. Daraus darf man wohl schließen, daß dann, wenn dem Farbstoff eine biologische Bedeutung zukommt, diese mit der Sporenbildung in Verbindung stehen wird.

4. Eigenschaften des gelben Farbstoffes von Bac. luteus.

Um den von Bac. luteus erzeugten Farbstoff in größerer Menge zu bekommen, legte ich mehrere Kulturen in flachen Fläschchen auf dem für die Farbstoffproduktion geeigneten alkalischen Agar (II 0,1) an. Am dritten Tage, als die Färbung ihr Maximum erreichte, wurde der gelbe Bakterienbelag mit heißem Wasser abgespült und filtriert. Die angehäuften Bakterien besitzen einen widrigen fauligen Geruch. Bei 100° getrocknet stellen sie eine gelbbraune, fest an das Filterpapier anhaftende Masse dar. Diese wurde zu folgenden Versuchen angewandt.

Wie bekannt, gehören die meisten gelben und orangegelben Pigmente tierischer und pflanzlicher Gewebe zu den „karotinartigen Stoffen", zu denen auch die sogenannten Lipochrome, welche tierische und pflanzliche Fette gelb färben, gerechnet werden (Czapek 1905, I p. 172). Charakteristisch für die Karotine ist die Lipocyanreaktion, welche in einer dunkelblauen Färbung mit konzentrierter Schwefelsäure besteht. Diese zeigt die am Filter angetrocknete Masse nicht. Wird sie mit konzentrierter Schwefelsäure betupft, so färbt sie sich anfangs grünlich, später geht die Farbe ins Rötliche über. Es wurden parallel Versuche mit Filterpapier, welches mit alkoholischer Karotinlösung getränkt wurde, gemacht und der große Unterschied in der Färbung beider Objekte mittels konzentrierter Schwefelsäure unzweifelhaft erkannt.

Auch die Lösungsverhältnisse lassen den gelben Farbstoff von Bac. luteus als völlig von den „karotinartigen Stoffen" verschieden erkennen: unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, Xylol und in verdünnten Säuren kalt, wie auch beim Erhitzen, wird der Farbstoff aus seinem Substrat am besten durch konzentrierte Essigsäure beim Er-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wärmen ausgezogen, allerdings zusammen mit gewissen Eiweißsubstanzen, welche die Reaktionen des Farbstoffes verdecken. Die Lösung ist dunkelgelb gefärbt und bleibt klar beim Erkalten. Mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt, färbt sich diese Lösung grünlich. Später wird sie opaleszent und beim Erwärmen rot-violett (Eiweißreaktion von Adamkiewicz-Hopkins).

Die anfängliche grüne Färbung ist wahrscheinlich durch den gelben Farbstoff bedingt, denn ich habe sie bei einem auf gleiche Weise dargestellten Essigsäureauszug von Bac. tumescens beim Versetzen mit konzentrierter Schwefelsäure nicht beobachtet, während die rotviolette Färbung auch hier deutlich zum Vorschein kam.

Die Unfällbarkeit durch Alkohol, das Entstehen eines voluminösen flockigen weißen Niederschlages durch Aether, das Eintreten beim Zusatz größerer Mengen Chloroform, Benzol, Xylol einer milchigen Trübung, welche beim Erwärmen verschwindet und beim Abkühlen wieder erscheint — alle diese Reaktionen zeigen die essigsauren Auszüge von Bac. luteus und von Bac. tumescens in gleicher Weise.

Außer in Eisessig ist der gelbe Farbstoff von Bac. luteus in heißen Lösungen von Alkalien löslich, besonders in konzentrierteren (20 Proz. KOH). Konzentrierte Salzsäure und Salpetersäure bewirken keine Farbenänderung. Der essigsaure Auszug wurde spektroskopisch untersucht. Es zeigte sich eine gleichmäßige Absorption im Blau, welche ungefähr in der Mitte diffus bandartig stärker erschien. Die Absorption erstreckte sich bis ins Grüne. Auffallende Bänder waren nicht vorhanden.

III. Die wichtigsten Merkmale von Bac. luteus.

Größe und Form der Sporen. Auf normalem Fleischextrakt-Peptonagar ohne Dextrosezusatz erzeugt Bac. luteus Sporen von 1,0 bis 2,6 μ Länge und 0,8—1,4 μ Breite. Bei der großen Mehrzahl der Individuen (86 Proz.) variiert die Länge zwischen 1,6 und 2,4 μ, die Breite beträgt bei der Mehrzahl (80 Proz.) 1,0—1,2 μ. Die gut ausgebildeten Sporen haben eine ausgesprochen bohnenförmige Gestalt; die kleineren sind ellipsoidisch, die kleinsten fast rund.

Auf gewöhnlichem Dextroseagar kommen Sporen zur Ausbildung, deren Länge von 0,6—2,0 μ, deren Breite von 0,6—1,4 μ variiert. Die Mehrzahl (86 Proz.) hat eine Länge von 1,0—1,4 μ und eine Breite von 0,8—1,2 μ (bei 92 Proz.). Bohnenförmige Sporen werden auf Dextroseagar gar nicht erzeugt; alle sind entweder rund oder schwach ellipsoidisch.

Die Schicht der reifen Sporen auf der Fläche von Dextroseagar ist dunkelbraun gefärbt. Eine schwache braunrötliche Färbung zeigen auch ältere Kulturen auf Agar ohne Dextrosezusatz. An den Sporen lassen sich ohne Färbung Intine und Exine unterscheiden; die letztere ist bei den bohnenförmigen, gut ausgebildeten, größeren Individuen an den Polen etwas dicker als an den Seiten.

Die Keimung erfolgt auf Agar bei 28° nach 2 Stunden. Das Keimstäbchen tritt aus der Spore äquatorial unter einem Winkel von 60° zur Sporenlängsachse aus. Die Länge der Keimstäbchen beträgt 6—8 μ, ihre Breite 1,4—1,6 μ.

Entwickelung auf Agar ohne Dextrose. In einer dichten Aussaatkultur, welche, wie immer, aus gut ausgereiftem, aber nicht abgekochtem Sporenmaterial angelegt wird, kommen Schwärmer nur selten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zum Vorschein. Nach 6—8 Stunden besteht die Kultur aus Ruhestäbchen von sehr wechselnder Länge, bis zu 20—30 μ messenden Hyphen, welche sämtlich im Vergleich mit den Keimstäbchen etwas dünner geworden sind und einen Durchmesser von 1,0—1,4 μ haben. In einigen von ihnen beginnt die Fettspeicherung. Anfänge der Sporenbildung kann man schon nach 14—16 Stunden bemerken. Die Sporangien von 3 bis 6 μ Länge und 0,8—1,4 μ Breite sind entweder regelmäßig cylindrisch gebaut, oder in der Mitte etwas angeschwollen. Oft hängen sie in längeren Ketten zusammen. Nach 24 Stunden besteht die Kultur zum größten Teil aus ausgereiften Sporen.

Makroskopisch entwickelt sich Bac. luteus auf Agar als schmutzigweißgrauer Ueberzug, welcher aber vor der Sporenbildung, also etwa nach 14 Stunden, sich schwach gelblich färbt. Nach Beginn derselben wird diese Farbe durch die schwach braunrötliche der Sporen ersetzt. Am 2.—3. Kulturtage wird auch die Agarschicht selbst braun.

In älteren Kulturen (über 1 Woche) findet Bildung sekundärer Kolonieen statt.

Gute Schwärmer kommen regelmäßig nach 6—8 Stunden in solchen Agarkulturen vor, bei denen die Aussaat so vorgenommen wurde, daß die von den einzelnen Sporen zur Entwickelung gelangenden Kolonieen isoliert auf der Oberfläche zu liegen kommen. Sie entwickeln 7—9 peritriche Geißeln. Oft sind auch längere bewegliche Fäden, wie auch schwärmende Sporangien zu sehen.

Entwickelung auf Dextroseagar. Keimung bei 28° nach 2 Stunden. Die Entwickelung ist sehr intensiv. Die Ruhestäbchen sind fadenförmig, hier und da unregelmäßig verdickt, nicht selten gekrümmt, an den Enden zuweilen zugespitzt. Die gelbliche Färbung beginnt im oberen Teil der Kolonie und schreitet allmählich nach unten fort. Die Färbung ist etwa nach 36 Stunden am stärksten. Sporenbildung beginnt erst nach 48 Stunden. Der fruktifizierende Teil der Kolonie unterscheidet sich von den vegetativen sehr deutlich durch die dunkle rötlichbraune Farbe der Sporenschicht, welche allmählich nach unten in die gelbliche vegetative Zone übergeht. Am 4. Kulturtage erstreckt sich die braune Farbe etwa bis zur Hälfte der Agarfläche. Kurz vor oder während der Sporenbildung teilen sich die stark angeschwollenen Fäden in unregelmäßig gestaltete Einzelstücke von 2—4 μ im Durchmesser. Die Sporen sind klein, von mehr oder weniger rundlicher Form.

Auf Kartoffel. Nach 5—6 Stunden ist die Vegetationsfläche als matter Fleck erkennbar. Er tritt immer deutlicher hervor, indem die Bakterienschicht in die Dicke wächst. Nach 24 Stunden tritt die schwach gelbe Farbe der Schicht auf, die Kartoffel selbst färbt sich dunkelgrau. Die Vegetation besteht hauptsächlich aus unverdickten, sich lebhaft teilenden Ruhestäbchen. Nach 30—32 Stunden setzt die Sporenbildung ein; zugleich beginnt die Bräunung der Bakterienschicht. Nach einigen Tagen erscheinen auf der braunen Sporenfläche gelbe sekundäre Kolonieen. Die Sporen gehören zum kleinen rundlichen Typus.

Auf Möhre. Nach 14 Stunden durchsichtiger schwacher Belag. Nach 24 Stunden ein weißliches fadenziehendes Häutchen. Das Fadenziehen nimmt im Laufe folgender 24 Stunden allmählich ab, das Häutchen wird etwas faltig und crêmefarbig. In dieser Zeit fangen die Stäbchen an Fett zu speichern. Die Sporenbildung beginnt erst nach 48 Stunden. Im Gegensatz zu der stark begrenzten Wuchsfläche auf Kartoffel und auf Agar entwickelt sich auf der Möhre das Bakterien-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

häutchen immer mächtiger; es überzieht das Möhrenstück von allen Seiten und wird ganz runzelig. Die Farbe ändert sich nicht. Nach 2—3 Wochen tritt äußerlich keine wesentliche Aenderung ein. Neben zahlreichen kleinen Sporen sind noch immer viele vegetative Formen zu sehen.

Entwickelung in flüssigen Nährmedien. Die intensivste Entwickelung (4) zeigt sich in den Nährlösungen II, VI, VII; in den Nährlösungen III, IV, VIII, IX, XI ist sie = 0. Die Lösungen 0, II und VI werden sauer, Vγ und Vδ alkalisch. Die sauren Lösungen bleiben durchsichtig, ungefärbt, die alkalischen werden schwach gelb.

Von den Reservestoffen produziert Bac. luteus nur Fett. Andere Reservestoffe (Glykogen, Volutin) sind nicht vorhanden.

Gelatine wird langsam verflüssigt.

Diastase wird gebildet.

Die Tötungszeit der 1 Monat alten Sporen bei 100° beträgt im Maximum ca. 5—6 Minuten.

Die Kardinalpunkte für Temperatur betragen (siehe unter V.):

	Sporenkeimung	Wachstum	Sporenbildung
Minimum	über 9°	ca. 9°	7— 9°
Optimum	zw. 40 u. 45°	zw. 35 u. 40°	ca. 35°
Maximum	„ 60 u. 65°	„ 50 u. 55°	zw. 45 u. 50°

Das Minimum und Maximum für Sauerstoffkonzentration (siehe unter VII.):

Minimum	Maximum
zw. 1 u. 5 mg	zw. 7600 u. 11 000 mg

Als weitere wertvolle diagnostische Merkmale von Bac. luteus seien noch angeführt:

1) der Dimorphismus der Sporen auf schwach alkalischem Fleischextrakt-Peptonagar;

2) die Verhinderung der Sporenbildung und Farbstoffproduktion durch die saure Reaktion des Nährmediums;

3) die besondere Natur des vom Bacillus produzierten gelben Farbstoffs: seine Unlöslichkeit in Alkohol, Wasser und den Fettlösungsmitteln und Löslichkeit in Eisessig.

IV. Eigenschaften des von mir isolierten Bacillus tumescens.

1. Nachkeimung der Sporen. Bildung sekundärer Kolonieen. Entwickelung auf mineralischem Nähragar.

Bac. tumescens wurde nach dem in Art. Meyers „Prakticum" p. 70 angegebenen Verfahren von einer Möhre isoliert und eine Reinkultur durch zweimaliges Ausgießen auf Agarplatten hergestellt.

(Fortsetzung folgt in Bd. XX.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber den Käsefehler „kort“ (kurz).

[Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Mit 1 Figur.

(Schluß.)

Daß die freie Säure in beiden Fällen nicht dem Umstande ihr Entstehen verdankt, daß es an unlöslichen Kalkverbindungen mangelt, welche eine Neutralisierung unmöglich machten, geht aus dem totalen CaO-Gehalt der beiden Käse hervor. Im ersten Falle wurden 0,114 g gefunden, im zweiten 0,116 g pro 10 g Käse und da 0,071 resp. 0,066 g pro 10 g Käse gelöst sind, zeigt sich, daß ein großer Teil des Kalkes noch zur Verfügung steht.

Die Analysen zeigen weiter, daß die Milchsäure entweder frei oder an Kalk gebunden im Käse vorkommt, die Summe beider gibt ja etwa die mit dem Milchzucker korrespondierende Menge Milchsäure. Verbindungen von Milchsäure mit dem Parakasein entstehen also im Edamer Käse nicht, im Gegensatz zu den Untersuchungen von L. L. v. Seyke und E. B. Hart über Cheddarkäse (New York Agricult. Exper. station Geneva. Bull. 214). Wenn man jetzt in Beziehung mit Vorstehendem einen frisch bereiteten Käse betrachtet, so kann man annehmen, daß dieser sozusagen eine Kultur von Milchsäurebakterien ist in einem Medium, welches die nötigen Nährstoffe enthält, aber außerdem so viele Stoffe, daß die Gärung bis zum äußersten durchgeführt werden kann. Dieses letztere ist aber nur dann möglich, wenn die gebildete Milchsäure und die bindenden Stoffe in einem bestimmten Verhältnisse zueinander stehen. Dieses Verhältnis steht nicht innerhalb scharfer Grenzen, darf aber bestimmte Limita nicht überschreiten; geschieht dies doch, so werden für die Einwirkung nachteilige Umstände geschaffen. Die beiden Stoffe, welche das Verhältnis regeln, sind im engeren Sinne genommen freilich der Milchzucker und die unlöslichen Kalkverbindungen, aber weil der erstere abhängig ist vom Molkengehalte des Käses und die zweiten vom Käsestoffgehalte, so würden eigentlich diese beiden letzten Faktoren in Betracht kommen. Der Käsestoff ist hierbei nicht nur aufzufassen als Parakasein, sondern auch als ein Gemenge von Parakasein, Calciumkaseinat, Bi- und Tricalciumphosphat. Das Verhältnis zwischen Käsestoff und Molke wird fast ausschließlich bestimmt durch die Bearbeitung, welche der Bruch erfährt; ist dieselbe weit durchgeführt und entsteht ein trockener Bruch, so wird bedeutend weniger Molke zurückbleiben, als wenn eine schlechte Bearbeitung stattfindet und ein nasser Bruch gebildet wird. Ist die Quantität Molke, welche im Bruch zurückbleibt, niedriger, als bei einer guten Bearbeitung im Käse zurückbleibt, so hat dies nur zur Folge, daß die neutralisierenden Stoffe im Uebermaß vorhanden sind. Die gebildete Säure kann, insofern die Konzentration es erlaubt, gebunden werden, aber ein schädlicher Einfluß auf die Reifung, abgesehen von einer zu trockenen Beschaffenheit, kann nicht entstehen. Etwas ganz anderes geschieht, wenn zu viel Molken anwesend sind. In diesem Falle entsteht mehr Milchsäure, wie für einen guten Verlauf der Reifung erwünscht ist; die Umsetzungen können nicht so weit durchgeführt werden, daß

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht ein Uebermaß freier Säure entstünde und folglich entsteht diese harte, kreidige, bröckelige, auf dem Käsebohrer zerbrechliche Käsemasse, welche auf holländisch als „kort" (kurz) angedeutet wird.

Es versteht sich, daß die sogenannten Weiplekjes (Molkenfleckchen) gleichfalls ihr Entstehen den stellenweisen Molkenanhäufungen im Käse verdanken, und an diesen Stellen wird ein Zustand, ganz ähnlich wie im ungenügend bearbeiteten Käse, geschaffen.

Neben dieser Ursache des Fehlers „kort" im Käse, welcher vollständig ein Bearbeitungsfehler ist, gibt es noch eine andere, welche ganz unabhängig von der Bearbeitung ist. Ist im ersten Falle der Molkenüberschuß die Ursache des Uebels, so sind jetzt die Bakterien im Spiel. Welchen Arten diese Bakterien angehören, läßt sich leicht erraten, wenn man das Auftreten des Fehlers in Beziehung mit dem Reifungsprozeß bringt. Der Fehler „kort" zeigt sich schon in den beiden ersten Wochen der Reifung; weil gerade in dieser Zeit die Milchsäuregärung ihren größten Einfluß geltend macht, besteht einige Wahrscheinlichkeit, daß unter den Milchsäurefermenten Varietäten vorkommen können, welche den Fehler hervorrufen, vorausgesetzt natürlich, daß die übrige Bearbeitung richtig war. Es war uns bei unseren Versuchen über die Käsereifung aufgefallen, daß, wenn zur Einleitung der Milchsäuregärung ein Ferment zur Verwendung kam, welches in kurzer Zeit die Milch gerinnen ließ, immer der Fehler „kort" in größerem oder geringerem Maße auftrat. Diese Erscheinung gab uns Veranlassung, das Verhalten derartiger Milchsäurefermente hinsichtlich der Käsemasse zu prüfen. Zu diesem Zwecke nahm man aseptisch gemolkene Milch, welche mit nur 2 Arten von Milchsäurefermenten geimpft wurde. Das eine Ferment brachte, in der üblichen Weise in Reinkultur gezüchtet, die Milch innerhalb 2 Tagen bei 22° C zur Gerinnung durch Säurebildung, während das andere unter den gleichen Bedingungen 4 Tage dazu brauchte. Der Unterschied in der Gerinnungszeit oder mit anderen Worten in der Säurebildung, wurde eben möglichst groß gewählt zur Erzielung möglichst äußerster Verhältnisse, damit der Unterschied ihrer Wirkung auf die Käsemasse scharf zu Tage trat.

Hier folgt der Bericht über jene Versuche:

6. März 1907. 2 Käse, hergestellt aus ± 50 l aseptisch gemolkener Milch, gezeichnet M und S. M enthält ein Kölbchen (30 ccm) Reinkultur in Milch eines Milchsäurefermentes, welches mittelst Molkengelatine aus fadenziehender Molke isoliert wurde und das die Milch in 4 Tagen bei 22° C gerinnen ließ.

S enthält ein Kölbchen (30 ccm) Reinkultur in Milch eines Milchsäurefermentes, welches aus einem 5 Tage alten Käse mittelst Molkengelatine isoliert wurde, und welches die Milch in 2 Tagen gerinnen ließ.

Am 6. April wurden beide Käse zum ersten Male angebohrt. Es zeigte sich alsdann, daß M geschmeidig war und ein gutes Aussehen hatte. S dagegen ist hart, kreidig, bröckelig, Geschmack und Geruch säuerlich, mit einem Worte „kort". Die zweite Untersuchung fand am 21. Mai statt und hatte dasselbe Ergebnis wie die vorige Prüfung.

13. März. Bereitet von ± 48 l aseptisch gemolkener Milch. 2 Käse, gezeichnet M und S. M enthält 2 Kölbchen (60 ccm) Reinkultur in Milch desselben Milchsäurefermentes, wie im Käse M vom 6. März. S enthält 2 Kölbchen (60 ccm) Reinkultur in Milch desselben Milchsäurefermentes, wie im gleichnamigen Käse vom 6. März.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am 6. April wurden beide Käse zum ersten Male geprüft. M zeigt sich geschmeidig mit einem guten Aspekt; S dagegen ist „kort". Die zweite Prüfung am 27. Mai ergab ganz und gar dasselbe Resultat.

20. März. 2 Käse, gemacht aus ± 47 l aseptisch gemolkener Milch, gezeichnet M und S. M enthält 2 Kölbchen Reinkultur in Milch mit demselben Milchsäureferment, wie im Käse M vom 6. März. S enthält 2 Kölbchen Reinkultur in Milch eines Milchsäurefermentes, isoliert aus einem „Säureerreger" für die Käsebereitung mittelst Molkengelatine, welches die Milch in 2 Tagen geronnen machte.

Am 6. April wurden beide Käse zum ersten Male angebohrt. Es zeigte sich, daß M geschmeidig ist, mit gutem Aussehen, S dagegen „kort". Die zweite Untersuchung am 27. Mai lieferte genau dasselbe Resultat.

27. März. Hergestellt aus ± 45 l aseptisch gemolkener Milch. 2 Käse, gezeichnet M und S. M enthält 2 Kölbchen Reinkultur in Milch desselben Milchsäureferments, welches im Käse M vom 6. März vorkommt. S enthält 2 Kölbchen Reinkultur in Milch desselben Milchsäurefermentes, welches bei der Bereitung des gleichnamigen Käses vom 20. März gebraucht ist.

Am 6. April wurden beide Käse angebohrt. M zeigt sich geschmeidig und hat einen guten Aspekt; S dagegen ist „kort". Die zweite Untersuchung, welche am 27. Mai stattfand, lieferte vollständig dieselben Ergebnisse.

Fassen wir die Resultate dieser Versuche zusammen, so zeigt sich, daß in allen Fällen, wo Gebrauch gemacht wurde von Milchsäurefermenten, welche schnell Säure bilden, „kort" auftrat, daß dagegen dieser Fehler ausblieb, wenn langsam säurebildende Milchsäurefermente benutzt wurden. Ein Einfluß der Bearbeitung kann in diesen Fällen nicht stattgefunden haben, weil die Personen, welche die Käse bereiteten, bei jedem Versuch den Käsekübel wechselten, so daß derjenige, der bei einem Versuche den Käse M machte, das andere Mal den Käse S für seine Rechnung bekam u. s. w. Jeder machte also 2 M- und 2 S-Käse. Verdankte also der Fehler „kort" sein Entstehen einer schlechten Bearbeitung, so wären nicht nur 2 schlechte S-Käse entstanden, sondern auch 2 kurze M-Käse.

Aus diesem Versuche geht also hervor, daß auch schnell säurebildende Milchsäurefermente die Ursache des „Kort" im Käse bilden können.

Unter schnell säurebildenden Milchsäurefermenten sind dann derartige Fermente zu verstehen, deren Kolonieen, abgeimpft von Molkengelatine, 30 ccm sterilisierte Milch bei 22° C in höchstens 2 Tagen durch Säurebildung zur Gerinnung bringen. Derartige Fermente können also den Fehler hervorrufen, werden dies aber nur unter der Bedingung tun, welcher auch in den Versuchen genügt wurde, daß sie in großer Zahl vertreten sind.

Schon oben wurde mitgeteilt, daß die beiden Fermente, welche in den Versuchskäsen S vorkamen, isoliert worden waren aus einem jungen Käse und aus einem Säureerreger für die Käsebereitung. Trotzdem war weder der junge Käse „kort", noch gab der Säureerreger Veranlassung zu „kortem" Käse. Dies kommt also daher, daß die Zahl derartiger Fermente, welche in beiden Fällen vorkommen, verhältnismäßig gering war, so daß sie nur geringen Einfluß ausüben konnten.

Generated on 2019-09-21 18:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Selbstverständlich hängt es nur von den Umständen ab, welche einen günstigen Einfluß auf ihre Entwickelung ausüben, ob diese Varietäten hervortreten oder nicht. Findet etwas Derartiges statt, so kann in dieser Weise „korte“ Käse entstehen.

Hierin liegt die Lösung, weshalb beim Gebrauche sogenannter „Reinkulturen“ bei der Käsebereitung, namentlich wenn man zu der zu verarbeitenden Milch verhältnismäßig viel zusetzt, oftmals „korte“ Käse erhält. Das Auftreten oder Ausbleiben des Uebels ist nur abhängig von dem Umstande, ob in derartiger Reinkultur mehr oder weniger starke Milchsäurefermente zugegen sind.

So teilte uns der Direktor einer in gutem Rufe stehenden Käserei mit, daß, seitdem er bei der Bereitung keine „lange Molke“, sondern „Reinkultur“ gebrauchte, der Fehler „kort“ mehr auftrat wie früher, während die Bearbeitung des Bruches vorzüglich war. Dies stimmt vollkommen überein mit den obigen Betrachtungen, weil eben in guter „langer Molke“ keine schnell säurebildenden Bakterien vorkommen; weder die darin vorkommenden Lange-Molke-Bakterien, noch die in großer Zahl vertretenen übrigen Milchsäurefermente gehören dazu.

Was die Ursache ist, daß derartige Fermente diese eigentümliche Einwirkung auf die Käsemasse ausüben, ist bisher nicht zu erklären. Weil durch die schnelle Säurebildung in verhältnismäßig kurzer Zeit eine große Menge Säure gebildet wird, kann vielleicht die Einwirkung auf die im Käse vertretenen neutralisierenden Stoffe in einer anderen Weise stattfinden, wie wenn die Säurebildung allmählich geschieht. Die Säuremenge, welche gebildet werden kann bei der Verwendung verschiedener Milchsäurefermente, muß aber naturgemäß ungefähr dieselbe sein, weil der Milchzuckergehalt bei guter Bearbeitung fast konstant ist, so daß dies nie einen derartigen Unterschied liefern kann, welcher die Erklärung geben würde.

Die verschiedenen Versuchskäse wurden gleich nach der zweiten Prüfung auch chemisch untersucht. Die chemische Zusammensetzung der normalen Käse und der Käse mit dem Fehler „kort“ war in mancher Hinsicht verschieden, wie untenstehende Tabelle zeigt:

	Trocken-substanz	Lösliches CaO umgerechnet auf Trockensubstanz	Lösliches P_2O_5 umgerechnet auf Trockensubstanz	Freie Milchsäure umgerechnet auf Trockensubstanz
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
„Korte“ (kurze) Käse 6. 3. 07	55,6	1,205	0,98	1,78
Normaler Käse 6. 3. 07	58	1,02	0,77	0,99
„Korte“ Käse 13. 3. 07	56,2	1,30		2,56
Normaler Käse 13. 3. 07	59	0,81		0,40
„Korte“ Käse 20. 3. 07	56,7	1,36		2,22
Normaler Käse 20. 3. 07	55,2	1,23		0,65
„Korte“ Käse 27. 3. 07	57,8	1,33	0,96	2,18
Normaler Käse 27. 3. 07	57,1	0,96	0,60	0,50

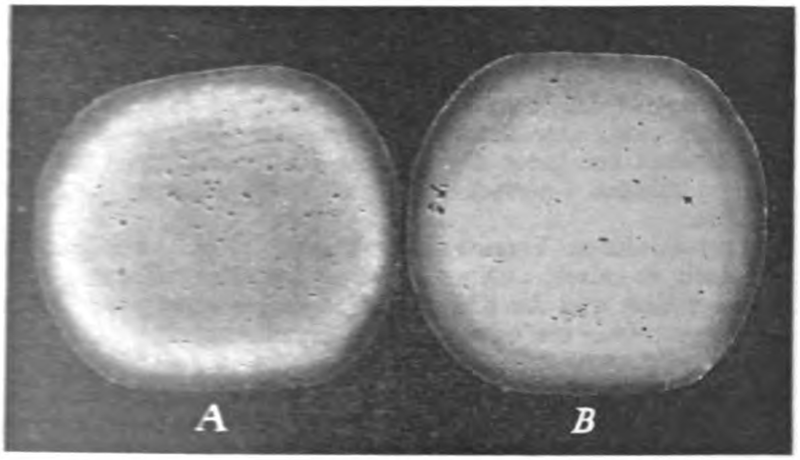
Aus diesen Zahlen geht hervor, daß, was den freien Säuregrad auf Milchsäure umgerechnet anbelangt, alle „korten“ Käse einen bedeutend höheren Prozentsatz aufwiesen als die normalen, nicht „korten“ Käse.

Inwieweit dieser Unterschied auf verschiedene Neutralisierung in beiden Fällen hindeutet, oder daß die schnell milchsäureproduzierenden Bakterien auch aus anderen Stoffen wie Milchzucker eine Säure bilden können, ist schwerlich zu entscheiden. Die Möglichkeit besteht, daß beide Vermutungen richtig sind; denn mit Ausnahme des ersten Käses

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei welchem Falle nur die Hälfte des Impfmaterials der übrigen Käse gebraucht wurde, war der Säuregrad aller „korten" Käse höher wie in gewöhnlichem Edamer Käse. In normalem Käse, welcher sozusagen eine ganze Farbenskala der Milchsäurefermente enthält, war in 2 Fällen der Säuregrad in der Trockensubstanz 1,71 und 2,04 Proz. Daß die Versuchskäse mit schwachen Milchsäurefermenten verhältnismäßig so wenig Säure enthalten, findet darin seine Erklärung, daß in diesen Käsen, im Gegensatz zu den Verhältnissen in der Praxis, nur eine Art vertreten ist.

Auf einen Unterschied in der Neutralisierung, welche in beiden Käsen stattfindet, würde auch noch der höhere Gehalt wasserlöslichen Calciums und Phosphorsäure hinweisen. Man würde sich denken können, daß bei der allmählichen Säurebildung an erster Stelle das leichter angreifbare Calciumkaseinat zersetzt wird und dadurch eine äquivalente Menge gebildeter Säure neutralisiert wird; während dagegen bei einer schnellen Säurebildung sowohl Calciumkaseinat wie die Calciumphosphate zu gleicher Zeit angegriffen werden. In diesem Falle geschieht, wie die früher angegebenen Formeln zeigen, die Neutralisation durch letztere Salze nur teilweise. Der Käsestoff wird alsdann mehr stellenweise entkalkt und es erübrigt mehr freie Säure, welche vielleicht auf die Kaseine einwirkt.



Die beigefügte Abbildung ist eine photographische Reproduktion zweier quer durchgeschnittener Versuchskäse. Der eine (B) ist geimpft mit schnell milchsäurebildenden Bakterien und also „kort"; der andere (A) ist mit schwachen Milchsäurefermenten geimpft. Obwohl beiden die natürliche Farbe fehlt, sieht man deutlich, daß die Substanz des kurzen Käses B aus einer weiß punktierten, harten Masse besteht, mit anderen Worten, kreidig ist. Der Hauptkern des anderen Käses dagegen sieht normal elastisch aus. Ringsum befindet sich aber ein weißer Rand. Dieser verdankt sein Entstehen dem schnellen Salzen. Die schwachen Milchsäurefermente brauchten mehr wie 2 Tage zur Zersetzung des Milchzuckers. Wenn der Käse in Pökel gelegt wurde, war die Gärung noch nicht beendet. Wie früher mitgeteilt wurde, häuft sich das Salz gerade in den äußersten Schichten auf, um erst später durch die ganze Masse zu diffundieren. Durch den Salzüberschuß ist der unvollendeten Gärung ein Ziel gesetzt und infolgedessen entstand der weiße Rand. Hieraus geht hervor, daß auch mit der Verwendung schwacher Milchsäurefermente in der Praxis Gefahr verbunden ist.

Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Morphologische und physiologische Beschreibung einiger Penicillium-Arten.

Von **Carl Weidemann.**

Mit 8 Figuren.

(Schluß.)

Physiologische Beobachtungen.

Bei 11° entwickelte der Pilz sich auf Gelatinen nur sehr langsam, bei normaler Zimmertemperatur zeigt er dagegen mittelstarkes Wachstum.

Gelatinen: Auf Zuckergelatine und gewöhnlicher Gelatine entsteht ein weißer Rasen, der sich in 3—4 Tagen hellgrünlich färbt. Später geht die Farbe in ein helles Graugrün, endlich in ein helles Graugelb über. Das Wachstum ist zunächst flach und dicht, aber bald heben sich einzelne Hyphen von der Mitte der Polster einige Millimeter hoch empor. Zuckergelatine verflüssigt sich nicht, saure Gelatine erst nach einigen Wochen. Auf alkalischer Gelatine zeigt sich nur sehr schwaches Wachstum.

Kartoffel: Langsam überzieht sich die Scheibe mit einer hellblau-grünlichen Decke, die sich allmählich dunkler blaugrün färbt.

Reis: Das Substrat wird zart hellgrün überzogen.

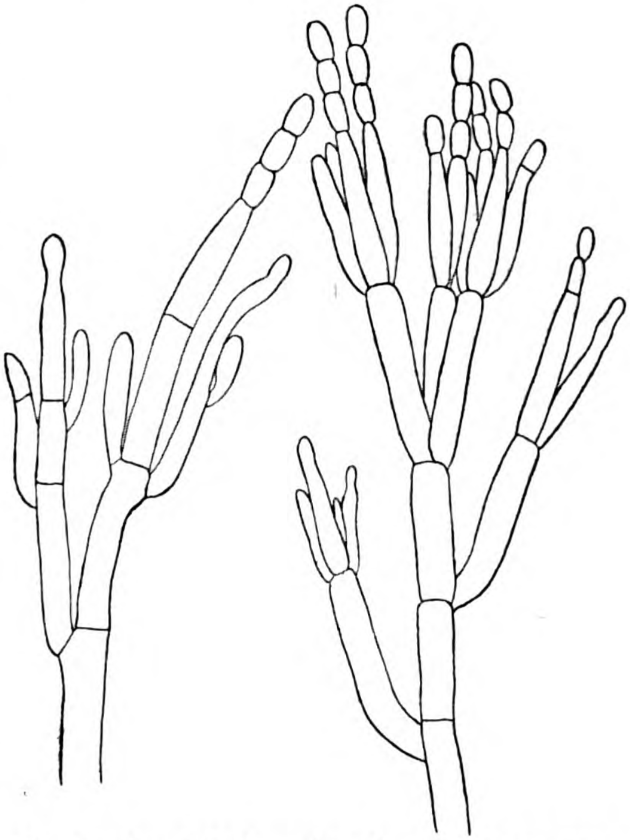


Fig. 4. Penicillium italicum. Vergr. 840.

Zitronenscheibe: Nach einer Woche überzieht sich die Scheibe mit einer dichtkörnigen Schicht von genau derselben Farbe wie auf den ganzen Zitronen.

Möhrenscheibe: Nach einigen Tagen zeigen sich hohe, sterile Hyphen, später entwickeln sich graugrüne, flockige Polster.

Traubenzucker: Schon nach 3 Tagen sind auf der Lösung I hellblau-grünliche Inseln entstanden, die sich schnell vergrößern und denselben rein hellblauen Farbenton annehmen wie auf der Zitrone.

Die Wuchsform der dichten Polster ist fest und körnig, ähnlich der für P. musae beschriebenen.

Hier tritt auch eine Wasserpressung ein, die aber bedeutend ge-

Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ringer und viel feiner ist als die von P. juglandis. Die Kulturen sind unten hell.

Asparaginrohrzucker: Nach einer Woche treten hellblaue Inseln auf, deren Farbe in ein grünliches Blau übergeht. Die Unterseite wird gelblich.

Stärke: Langsam wachsen blaugrünliche Inseln heran. Die Unterseite ist braungelb. Die Flüssigkeit wird gelblich.

KNO_3: Der Pilz verhält sich ähnlich wie auf der Stärke, nur ist das Wachstum etwas schwächer und die Inseln haben zunächst ein flockigeres Aussehen. Die weißen Flocken färben sich zuerst zart hellgrün, später etwas dunkler. In der Lösung war Oxalsäure nachzuweisen.

Saure und alkalische Substrate: In 8-proz. Zitronensäure bildet der Pilz noch eine hellblau-grünliche Decke. In 2-proz. Lösung bilden sich schnell zahlreiche Inseln, oben hellblau, unten hell. Später werden die Polster grau. Die Flüssigkeit wird gelblich. In allen Na_2CO_3-Lösungen von 1—$^1/_8$ Proz. wächst der Pilz nicht. Rote Lackmusgelatine wird purpurn. Da P. italicum auch auf alkalischer Gelatine sehr schlecht gedieh, so scheint es nur auf sauren bis neutralen Medien fortkommen zu können, wie es ja seinem natürlichen Vorkommen entspricht.

Tannin: Kein Wachstum.

Milch: Es entwickelt sich eine Decke von unbestimmter Mischfarbe. Kaseïn setzt sich sowohl an der Unterseite der Kultur als auch am Boden des Kolbens als weißer Ueberzug ab und verschwindet sehr langsam.

Charakteristisch erscheinen mir für diese Species die hellbläuliche Farbe, die schlechte Entwickelung bei 11°, das auf den künstlichen Nährmedien meist nur mittelstarke Wachstum, welches auf alkalischen Substraten sogar gänzlich aufgehoben scheint.

Diese Untersuchungen kamen, wo sie mit denen Wehmers und Stolls parallel liefen, im wesentlichen zu denselben Resultaten. Auch die morphologischen Beobachtungen stimmen mit ihren Zeichnungen überein.

5. Penicillium olivaceum Wehmer.

Der Pilz entwickelte sich häufig auf Zitronen und Apfelsinen, jedoch später als Penicillium italicum (wie Wehmer schon bemerkt), dann aber wächst er sehr kräftig und überzieht mit einer dichten olivfarbenen Schicht jede freie Stelle der Frucht.

Mikroskopische Untersuchung.

Die Hyphen sind 5—5,5 μ breit, die Zellen gegen 35 μ lang. Der wenig verzweigte Konidienträger bildet an jedem Zweig nur 1—2 Basidien aus, die ihrerseits bis zu 4 Sterigmen tragen. Die Sterigmen sind zunächst noch kurz, nur 2—3mal so lang wie breit, bilden aber schon Konidien aus. Wenn sie ausgewachsen sind, ist ihre Länge etwa das Fünffache der Breite. In der Mitte sind sie oft ein wenig eingeschnürt, unten abgerundet, oben etwas zugespitzt. Die Konidien sind elliptisch, 6—8 μ lang, 4—5,5 μ breit. Sie wachsen nach der Abschnürung nur noch wenig. Eine doppelte Kontur ist sichtbar. Vor der Keimung, die auf Zuckergelatine nach 15 Stunden eintritt, schwellen die Konidien bedeutend an, aber der Durchmesser vergrößert sich fast ausschließlich, so

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß sie mehr rundliche Formen annehmen. Konidien bilden sich in Zuckergelatine schon nach 40 Stunden.

Physiologische Beobachtungen.

Bei 11° entwickelte diese Art sich auf Gelatinen bei weitem am schlechtesten, erst nach 2 Wochen zeigte sich geringes Wachstum. Auch bei 18° gedeiht der Pilz noch schlecht.

Gelatine: Auf Gelatinen entstehen zunächst farblose Inselchen, die in Strichkulturen weiß werden, während dann, wenn die Konidien mehr zerstreut ausgesät sind, das Mycel nur fast farblose, schneeflockenartige Stellen bildet. Die Hyphen kriechen an der Oberfläche des Substrates hin. Nach 5—6 Tagen beginnt eine Grünfärbung, die später in ein Braungrün übergeht. Der Pilz wächst auf gewöhnlicher Gelatine nur

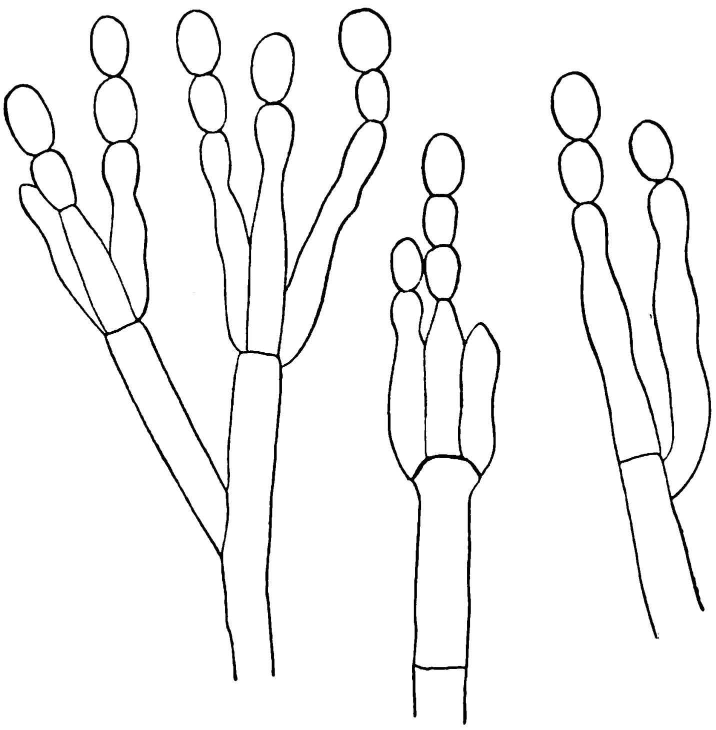


Fig. 5. Penicillium olivaceum. Vergr. 840.

mäßig, auf Zuckergelatine bedeutend besser. Auf 6-proz. sauren und 2-proz. alkalischen Gelatinen gedeiht er nicht gut. Zuckergelatine wird nicht verflüssigt, Würzegelatine dagegen schnell.

Kartoffel: Das Wachstum ist langsam und schlecht. Die Hyphen liegen dem Substrat eng an, nur in der Mitte ragen sie etwas über die Kartoffel hinaus. Nach der Konidienabschnürung wird die Kultur gelblichgrün, bleibt aber oft von einem sterilen, farblosen bis weißen Rand umgeben.

Reis: Dies Substrat wird erst spät und sehr spärlich hellgrünlich überzogen.

Zitronenscheibe: Langsam entwickelt sich eine dichte, kräftige, olivfarbene Decke.

Möhrenscheibe: Wie auf der Zitronenscheibe.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Traubenzucker: Auf der Lösung I entwickeln sich weiße Inseln, die nach einer Woche hellgrün-gelblich werden. Diese Rasen haben ein großkörniges Aussehen. Nach weiteren 10 Tagen färben sich die Kolonieen gleichmäßig hell graugrün. Die Unterseite wird weiß bis gelblich. Die Flüssigkeit bleibt klar.

Rohrzucker: Der Pilz wächst langsam und die Polster krümmen sich bald, ohne daß es vorher zu einer ausgiebigen Konidienbildung gekommen ist.

Asparaginrohrzucker: Langsam wachsen kleine Polster von schöner, warm grüner Farbe heran. Diese Rasen haben ebenso wie in der Lösung I immer eine Wuchsform, die der von P. italicum sehr ähnlich ist, sie bilden nämlich, ohne weiße Hyphen zu zeigen, dichte, oben glatte, höchstens etwas körnige Massen.

Stärke und KNO_3: Kein Wachstum.

Saure und alkalische Substrate: In 5-proz. Citronensäure entwickelt der Pilz sich nicht. In 2-proz. Lösung entstehen kleine, weiße Kolonieen, die mittelstark wachsen, sich aber bald, ohne zu fruktifizieren, zu glasigen, zarten Röllchen und Stäbchen krümmen. Die Flüssigkeit bleibt klar. In allen Na_2CO_3-Lösungen ($1—^1/_8$-proz.) wächst P. olivaceum nicht. Blaue Lackmusgelatine wird stark rot. Der Pilz nimmt also Säuren und Alkalien gegenüber eine ähnliche Stellung ein wie P. italicum, nur hemmt schon geringere Konzentration von Zitronensäure sein Wachstum.

Milch: Es bildet sich nur wenig farbloses Mycel.

Tannin: Kein Wachstum.

Der Pilz ist sehr leicht mikroskopisch von den anderen hier behandelten Formen zu unterscheiden, denn er ist viel kräftiger gebaut, die Hyphen sind bedeutend breiter, die Konidien fast doppelt so groß wie die der anderen Arten. Alle beobachteten morphologischen Eigentümlichkeiten werden durch die Stollsche Zeichnung wiedergegeben. Auffallend ist das schlechte Wachstum in vielen Nährlösungen, wie KNO_3, Stärke, den Na_2CO_3-Lösungen und den gewöhnlichen Gelatinen. Die Species unterscheidet sich weiter durch die hohe untere Temperaturgrenze.

6. Penicillium camemberti Thom.

Camembert- und Briekäse wurden wiederholt untersucht. Stets ließ sich aus dem weißen Mycel der Rinde P. camemberti kultivieren. Lange Versuchsreihen wurden mit dem Pilz des Camembert- und dem des Briekäse parallel unternommen. Es zeigte sich in dem Verhalten durchgängig Uebereinstimmung; nur selten machten sich geringe Intensitätsdifferenzen bemerkbar, indem z. B. bis zur Keimung die eine Kultur längere Zeit brauchte oder eine bestimmte Färbung nicht genau am gleichen Tage auftrat. Diese Unterschiede mögen durch sekundäre Ursachen, wie verschiedenes Alter, Feuchtigkeit, auch durch verschieden gute Ausbildung und Reife der Konidien auf den Käsesorten bedingt sein.

Mikroskopische Untersuchung.

Die Hyphen dieses Pilzes sind 3,0—4,2 μ breit, die Zellen 30—40 μ lang. Die Konidienträger sind dünnwandig, so daß sie, wie Thom bemerkt im Alter oft zusammenknicken. Der Träger pflegt meistens nur einen kräftigen Seitenast zu tragen, der ebenso wie der Hauptstamm

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oben etwas konsolartig verbreitert ist. Von dieser Fläche erheben sich wenige langgestreckte Basidien, die oben auch wieder breiter sein können (ähnlich wie bei P. juglandis) und nur 2—4 Sterigmen tragen. Diese sind 8—11 μ lang und 2,4—3 μ breit, also ziemlich kurz. Sie sind gleichmäßig dick, nur oben halsartig ausgezogen. Hier bildet sich der Hals durch eine Querwand zu einer Konidie um, die schnell größer wird, während sich schon ein neuer halsartiger Sterigmenkopf bildet. Die Konidien sind zunächst cylindrisch, dann elliptisch und schließlich, im ausgereiften Zustand völlig rund. Der Durchmesser mißt gegen 5 μ. Unter dem Mikroskop ist die Farbe der reifen Konidien gelblich grün. Zwischen den einzelnen Gliedern der Kette sind keine Stielchen zu beobachten. Vor der Keimung, die in Zuckergelatine nach 16 Stunden eintritt, schwellen die Konidien bedeutend an. Die Hyphen wachsen an den ersten Tagen ausgesprochen strahlig, daher haben wohl auch ältere Polster stets eine gleichmäßig rundliche Form. Konidienbildung tritt erst spät ein.

Physiologische Beobachtungen.

Gelatine: Der Pilz wächst ziemlich langsam; runde weiße Polster nehmen durch allseitig hochstehende Hyphen ein ausgeprägt samtartiges Aussehen an. Die Hyphen wachsen 3 bis 5 mm hoch. Nach einer Woche beginnt von der Mitte aus, zunächst mit einem zarten fast unmerklichen hellgrünen Schimmer, eine grünliche Färbung der Kolonieen. Diese Farbe bleibt aber meistens unbestimmt begrenzt und geht allmählich in einen weißen Randbezirk über. Die Unterseite der Polster ist hellgelblich und zeigte in dünn ausgegossenen Petri-Schalen oft konzentrische, ringförmige Kurven von dunklerem Gelb. Die grünliche Färbung beginnt manchmal auch mit einem gelblichen Ton. Im Alter geht das Grün stets in ein helleres oder dunkleres Grau bis Graubraun über. Auf Zuckergelatine bleibt der Pilz am längsten weiß, oft verfärben sich nur ganz einzelne Teile der Kolonie graubraun. Es tritt dann Konidienabschnürung ohne Färbung ein. Auf 6-proz. sauren und 2-proz. alkalischen Gelatinen vermag diese Art zu wachsen. Mit Ausnahme der sauren werden die Gelatinen nicht oder doch nur spät und unvollständig verflüssigt, wie auch Thom feststellte. In geringem Maße fand sich Wasserauspressung.

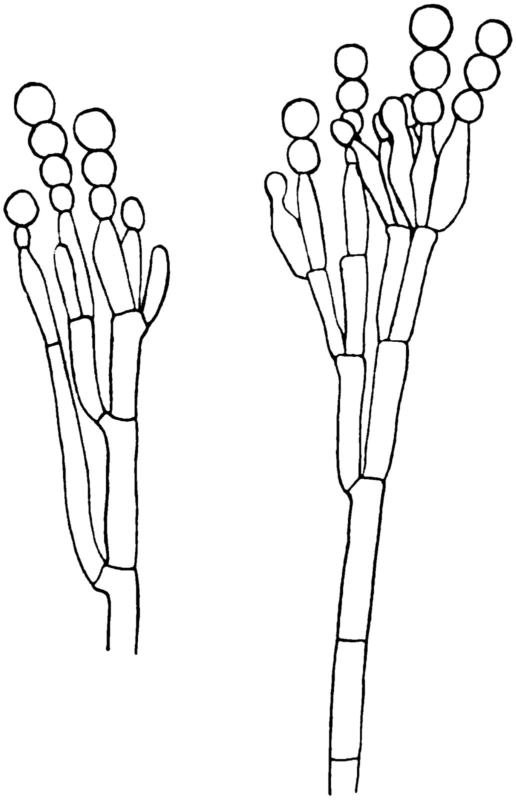


Fig. 6. Penicillium camemberti. Vergr. 840.

Kartoffel: Der Pilz entwickelt weiße, runde, zuerst oft halbkugelförmige Polster mit gleichmäßig abstehenden Hyphen. Nach einer

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Woche beginnt eine langsam fortschreitende grünliche Färbung von der Mitte aus. Schließlich werden die Kulturen grau. Das Wachstum ist sehr kräftig, deshalb werden die hochstehenden Hyphen über 5 mm lang.

Reis, Zitronenscheibe, Möhrenscheibe: Auf allen diesen Substraten verhält sich der Pilz ähnlich wie auf Gelatinen und Kartoffel.

Traubenzucker: In der Lösung I bilden sich zunächst wieder weiße, samtartige Polster, unten hellgelb. Nach 1 Woche beginnen sich die Kolonieen bootartig zu krümmen. Trotzdem findet gleichzeitig eine Grünfärbung statt.

Rohrzucker: Ebenso wie auf I.

Asparagin-Rohrzucker: Anfänglich langsames Wachstum. Nach 1 Woche färbt sich die Mitte der Polster hellgrau. Nach 2 Wochen ist der Pilz sehr stark entwickelt, in der charakteristischen Wuchsform. Die Unterseite des Mycels ist immer hell.

Stärke: Typische Inseln werden mittelstark entwickelt; sie bleiben aber flach, wie überhaupt auf Stärkelösungen bei allen untersuchten Formen nie eine Krümmung eintrat. Der Kern wird grünlich. Die gelbliche Unterseite zeigt die schon erwähnten konzentrischen Ringe.

KNO_3: Flaumige Anfänge entwickeln sich langsam zu den dichteren normalen Polstern mit grünem Kern und gelblicher Unterseite.

Saure und alkalische Substrate: Auf 5-proz. Zitronensäure bilden sich nur wenige weiße, gekrümmte Inseln. Auf 2-proz. Lösung wachsen normale hochhyphige Polster, die nach verhältnismäßig kräftiger Entwickelung sich doch noch krümmen. Auf 1-proz. und $^1/_4$-proz. Na_2CO_3 vermag der Pilz sich noch vollständig zu entwickeln. Blaue Lackmusgelatine wird bald gesäuert, rote nach längerer Zeit etwas blau. Dies bestätigt Thoms Bemerkung: „führt zunächst blauen Lackmus kräftig in roten über, dann, nach 4—6 Tagen, fängt er an das Rot von der Mitte ausgehend wieder in Blau zu verwandeln, bis schließlich alles blau geworden ist."

Milch: Auf Milch wächst diese Species sehr kräftig in der charakteristischen Form und Farbe. Die Kultur schien schwach den Geruch des Briekäses zu haben. Die Decke krümmte sich in den ersten Wochen nicht. Das ausgeschiedene Kaseïn wurde langsam gelöst, jedoch war nach 1 Monat die Unterseite der Decke noch mit einer dicken weißen Schicht überzogen.

Tannin: Kein Wachstum.

Der Pilz unterscheidet sich auf jedem Substrat von den gewöhnlichen Penicillium-Formen durch seine charakteristische weiße Färbung mit dem zart gefärbten Kern. Auffallend ist die Gleichartigkeit des Wuchses (samtartig) auf allen Medien.

Der Pilz des Camembertkäses ist Penicillium camemberti, album und candidum genannt worden. Besonders in Bezug auf die Bezeichnungen album und candidum herrscht große Verwirrung, die durch teilweise entgegengesetzte Ergebnisse der Forschung und ungenügende Charakterisierung der Arten hervorgerufen und stets vergrößert worden ist. Es sei mir deshalb erlaubt, kurz auf die verschiedenen Angaben über die Penicillium-Arten des Brie- und Camembertkäses einzugehen.

Duclaux hat zuerst Versuche angestellt, nach denen man vermuten konnte, daß die Schimmelvegetation der Außenfläche des Briekäse für die Reifung des Käses von entscheidender Bedeutung ist. Epstein fand bei Untersuchung von Brie stets 2 Sorten von Penicillium, nämlich P. glaucum und album und kam zu dem Schluß, daß P.

glaucum möglichst unterdrückt werden muß, weil es einen unangenehm modrigen Geruch und bitteren Geschmack gibt, während P. album für die Reifung nötig ist. (Das Zahlenverhältnis von P. album zu P. glaucum soll deshalb von vornherein für die Güte des Käses von Bedeutung sein. Auch nach Mazés Mitteilungen geht P. glaucum immer neben P. album her. In meinen Untersuchungen fand sich beim Brie stets ein glaucum-ähnlicher Pilz in geringerer Menge, der beim Camembert fehlte.) Für die Herstellung des Camembert ist dagegen nach Epstein P. album nicht erforderlich.

Roger nennt den Pilz, den er auf Brie und Camembert fand, P. candidum, ohne ihn näher zu beschreiben. Der wesentliche Unterschied des P. candidum Link gegen P. camemberti ist aber, daß P. candidum stets weiß bleibt. Mit Berücksichtigung dieser Differenz hat Mazé durch ausgedehnte praktische Versuche zweifellos festgestellt, daß P. album, das er dadurch charakterisiert, daß es sich auf allen künstlichen Nährmedien grün färbt, mit Ausschluß von glaucum und candidum für die Fabrikation des Brie und Camembert nötig ist. Nach seinen Angaben findet sich P. candidum auf Boudon und Coulomnier double crême, P. album dagegen auf Brie, Camembert und Coulomnier.

Neuerdings ist Thom durch außerordentlich umfangreiche Untersuchungen an Camembert- und Briekäse zu demselben Resultat gekommen, nämlich, daß sein P. camemberti, das zweifellos mit Mazés P. album identisch ist, für die Reifung der beiden Käsesorten nötig ist. Seine Beschreibung und Zeichnung läßt sicher erkennen, daß mir der Pilz seiner Untersuchungen vorlag. Es ergibt sich weiter, daß dieser Pilz Thoms mit dem P. candidum Rogers identisch ist, denn Thom hat dies an Proben festgestellt, die er von Roger zugeschickt bekam.

Wir haben demnach Grund zu der Annahme, daß das P. candidum Rogers gleichbedeutend ist mit dem P. album Mazé, dem P. camemberti Thoms und dem Pilz dieser Untersuchung.

Es fragt sich nun weiter, ob diese Art P. camemberti, Thom folgend, oder P. album, nach Mazé, zu nennen ist. Zu dieser Frage sagt Thom selbst unter anderem etwa folgendes:

Diese Art ist unzweifelhaft diejenige, die von Mazé als P. album Epstein, bezeichnet wurde. Aber der Name album wurde schon 50 Jahre früher von Preuß gebraucht für eine Species, deren Identität mit Epsteins Art von Epstein selbst nicht beansprucht wurde. Deshalb hat auch Lindau die Art P. epsteini Lindau genannt. Außerdem ist es nach der physiologischen Charakteristik, die Epstein gegeben hat, fast wahrscheinlich, daß er eine andere Art als die vorliegende untersuchte. Thom nennt deshalb den Pilz P. camemberti und läßt die Frage nach der Identität mit dem P. album Preuß und dem Epsteins offen. — Ich schließe mich in der Bezeichnung Thom an, um die Lage nicht von neuem zu verwirren.

Wie Mazé angibt, muß die Pilzdecke der Käse, nach allgemeiner Ueberzeugung, während der ganzen Entwickelung weiß bleiben, höchstens ist ein leicht bläulicher Schimmer zu dulden. Nach der Ansicht der Fabrikanten zeigt nämlich eine Dunkelfärbung der Pilzdecke an, daß ein schlechter Pilz (jene schon erwähnte glaucum-ähnliche Art) sich an die Stelle des guten gesetzt habe. Mazé ist dagegen auf Grund seiner Untersuchungen der Meinung, daß die dunkle Färbung nur das Reifestadium des P. camemberti anzeige. Bei der normalen Fabri-

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kation wird der Pilz eben an der vollen Entwickelung gehindert, einerseits durch andere Pilze (Oidium), dann durch das Umkehren des Käses, durch das Lagern in Kellerräumen mit niedriger Temperatur und ammoniakalischer Atmosphäre. Dadurch neutralisiert sich die Oberschicht des Käses, und die „le rouge“ genannte Vegetationsgruppe vermag sich zu entwickeln. Diese löst die Penicillium-Art in ihrer chemischen Wirksamkeit ab. Fabrikation ohne den Pilz gibt aber eine schlechtere Qualität, er muß demnach noch andere Aufgaben haben: „Il empêche la pénétration de l'oxygène dans l'intérieur de la pâte et prévient ainsi le rancissement de la crême, il maintient la porosité de la surface et permet aux substances solubles de pénétrer dans la masse du caillé.“

Mit Reinkulturen dieses P. camemberti wird mit Erfolg in Amerika und Frankreich im großen gearbeitet, während P. candidum, nach J. Arthaud-Berthet, weniger feine Ware liefert. Paul Guéraults Worte auf dem zweiten internationalen Milchwirtschaftskongreß in Paris 1905 waren: „Die pasteurisierten und mit Reinkulturen von Mazé besäten Käse sind sehr viel besser als die Mehrheit der Käsesorten.“

7. Penicillium roqueforti Thom

= P. aromaticum casei I. Ohlsen.

Gorgonzolakäse aus verschiedenen Bezugsquellen wurde untersucht. Stets fand sich auf ihm ein und derselbe Pilz. Später wurde der Pilz

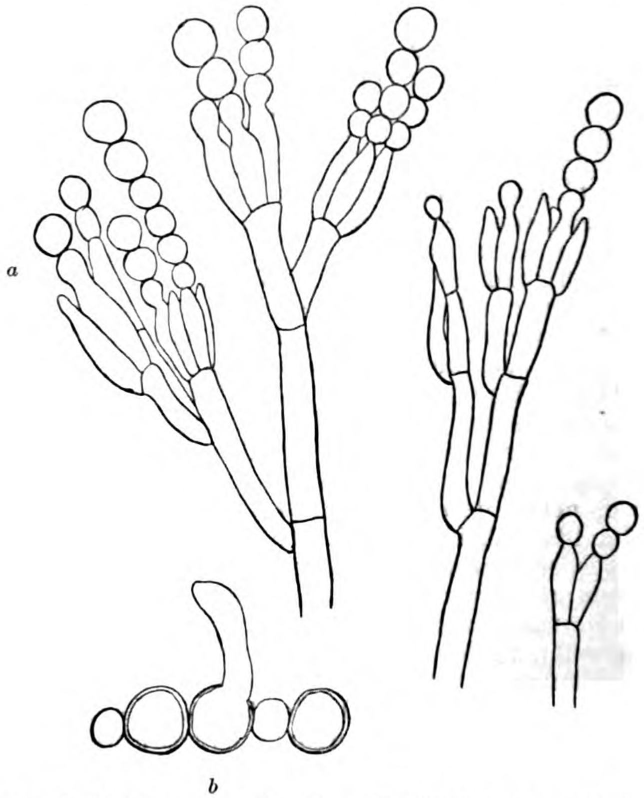


Fig. 7. Penicillium roqueforti. *a* Konidienträger. *b* Konidien einer Kette beim Beginn der Keimung. Vergr. 840.

Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

des Roquefortkäse wiederholt ebenso kultiviert. Im großen und ganzen verhielten sich beide gleich, besonders stimmten sie in den auffallendsten Eigentümlichkeiten überein. Daneben fanden sich aber auch konstante, freilich geringfügige Differenzen, so daß beide Pilze als Varietäten einer Art und zwar, wie sich im Laufe der Untersuchung ergab, des P. roqueforti Thom zu betrachten sind. Es mögen hier beide Varietäten gleichzeitig betrachtet werden, wobei auf die Unterschiede jedesmal besonders hingewiesen werden wird.

Mikroskopische Untersuchung.

Anf Zuckergelatine sind die Hyphen gegen 4,2 μ breit (3,6—5,0). Zellenlänge 35—45 μ. Die Verzweigung der Konidienträger ist schwach. Es findet sich oft eine ähnliche Gabelwuchsform wie sie bei P. juglandis beschrieben wurde, zugleich ist auch das Ende des Trägers verbreitert. Die Basidien unterscheiden sich nicht wesentlich von den anderen Zellen des Konidienträgers, nur sind ihre Endflächen auch etwas stempelartig. Die Sterigmen sind meistens in der oberen Hälfte dicker als unten, oft freilich auch gleichmäßig schlank. Stets ist oben ein ziemlich enger Hals ausgebildet. Thom fand bei dem Bau des Pinsels große Verschiedenheiten, so in manchen Fällen üppigen Wachstums auch Bildung von je mehreren Sterigmen an der Seitenwand der Basidien. Es gelang mir nicht, ähnliches zu beobachten. Meist stehen 2—4 Sterigmen zusammen. Die Konidien, die sie abschnüren, sind von Anfang an rundlich, zunächst aber noch klein. Bis zur Reife wachsen sie auf etwa die doppelte Größe heran. Ihr Durchmesser beträgt dann 4—5 μ. Nach der Präparation sieht man unter dem Mikroskop noch lange Ketten, an denen man bemerken kann, wie die Konidien langsam und stetig größer werden. Zarte Brückchen zwischen reifen Konidien wurden mehrfach beobachtet. Die Membran ist kräftig und läßt deutlich eine doppelte Kontur erkennen. Vor der Keimung vergrößern sich die Konidien durch Schwellung bis auf 7—9 μ. Oft findet man bei dieser Art, daß von einem Kettenstück einige bedeutend geschwollen sind, während andere mitten zwischen ihnen klein geblieben sind. Keimung tritt in Zuckergelatine in 15 Stunden ein; die Keime wachsen rasch, zeigen aber nur schwache Verzweigung. Rötlichgelbe Färbung des Hypheninhaltes und runzelig-blasige Ausbildung der Zellmembran wurde zeitweise beobachtet. Konidienbildung trat nach 40 Stunden ein.

Physiologische Beobachtungen.

Gelatine. Schon nach 2 Tagen haben sich auf Zuckergelatine und Würzegelatine kleine Kolonieen mit grünbläulichem Kern gebildet, sterile Hyphen gehen strahlig, eisblumenartig von diesem aus. Die Unterseite war zunächst gelblich, wurde aber bei dem Gorgonzolapilz später grün bis schwarzgrün, wenigstens teilweise, während sie bei Roquefort heller gelblich blieb. Die Pilze wachsen auf 6-proz. sauren und 2-proz. alkalischen Gelatinen ähnlich, nur langsamer als auf Zuckergelatine. Die Farbe der Oberseite geht schließlich in ein dunkles Graugrün über. Verflüssigung der Gelatinen trat in den ersten Wochen nicht ein, erst nach längerer Zeit, wie auch Thom angibt, zeigte sich eine mehr oder weniger vollständige Erweichung.

Aeußerst charakteristisch ist für diese Art die Wuchsform auf allen Gelatinen und den meisten Nährlösungen. Ohlsen spricht von „ebener Oberfläche, sehr feinem Mycel, sehr geneigt sich auszubreiten, aber weniger

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in die Dicke zu wachsen". Thom beschreibt die Wuchsart sehr treffend, so daß ich beim Lesen seiner Angaben sofort sicher war, denselben Pilz zu haben. Deshalb möchte ich seine Worte hier anführen: „The mycelium is mostly submerged, but very close to the surface and grows rapidly outward from the starting point in a radial manner, which is rendered prominent by certain of the threads lying just under the surface for the most part, but making loops into the air by rising just above the substratum for a little way. This gives a grayish, almost cobwebby (arachnoid), appearence to the margin of the young colony. The rate of growth is not uniform in the circumference of such a colony, which makes the border of a colony uneven instead of regularly circular as most species appear." Dies spinnewebartige Wachstum wurde von mir stets bemerkt und staubartig oder flockig genannt. Ebenso fand ich in den Nährlösungen nie einen scharf begrenzten Rand.

Kartoffel: Der Gorgonzolapilz zeigt auf Kartoffeln ein typisch schlechtes Wachstum. Es tritt zwar bald an einigen Stellen ein Ueberzug von weißlichem Mycel auf, aber das Wachstum hört bald auf. Die Mitte wird kaum grün und verfärbt sich schnell braungrau. Roquefort bildet dagegen, freilich erst nach längerer Zeit, einen starken, dunkelgrünen Ueberzug.

Reis: Die Pilze überziehen langsam das Substrat mit einer kräftigen, dunkelgrünen Schicht.

Zitronenscheibe: Das Wachstum ist schwächer als auf Reis, sonst ähnlich.

Möhrenscheibe: Zunächst bildet sich ein weißer Flaum, der in ein Blaugrün übergeht.

Traubenzucker: In den Lösungen I und II finden sich 2 Tage nach der Aussaat weiße staubartige Pünktchen, die sich flach auf der Oberfläche ausbreiten. Die Farbe wird schnell grünlich, ohne daß weiße Partieen übrig bleiben. Zur Ausbildung einer zusammenhängenden Decke kommt es nicht. Die Unterseite wird immer dunkelgrün, schließlich fast schwarz. Die Flüssigkeit bleibt klar.

Glycerin: Das Wachstum ist besser als auf I. Es entsteht eine zusammenhängende Decke mit einem schwachen sterilen Hyphenrand.

Rohrzucker: In Rohrzucker, sowohl bei KNO_3 als bei Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle, wächst diese Species sehr schlecht; die Oberfläche der Lösungen wird nur mit grünen Flocken bedeckt. Immer zeigte sich, bei diesem geringen Wachstum doppelt auffällig, nach etwa 6 Tagen eine rötliche Färbung der Lösung, ähnlich wie die einer Fuchsinlösung. Die Färbung nimmt einige Tage zu, geht aber schließlich in ein schmutziggelbes Rot, etwa die Farbe der Möhre, über. In Ammoniumnitratlösung zeigte Roquefort die Färbung nicht (wuchs überhaupt kräftiger, anfänglich hellblau, dann dunkelgrün), Gorgonzola nur vorübergehend. Der Farbstoff nimmt beim Verdichten durch anhaltendes Kochen auch einen gelbroten Ton an. Die Spektraluntersuchung ergibt Absorption des blauen und violetten Lichtes. Der Farbstoff wird erst durch Zusatz von größeren Mengen von Salzsäure oder Kalilauge zerstört, scheint also recht haltbar zu sein.

KNO_3 und $NaNO_2$: Auf Traubenzucker-KNO_3 wächst der Pilz normal, es tritt keine Färbung der Lösung ein. Bei Rohrzucker-KNO_3 ist die Färbung dagegen besonders kräftig und dauernd, bei $NaNO_2$ geht sie ziemlich schnell in den gelblichen Ton über. Die Unterseite der Decke in $NaNO_2$ ist hell. In beiden Lösungen zeigt sich im Innern der Flüssigkeit ein Wuchern von farblosem Mycel.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Asparagin: Es bildet sich rasch eine zarte, seidenpapierartige Decke, die bald dunkelgrau-grün wird. Das Wachstum ist verhältnismäßig stark. Die Decke hat hier eine selten dichte, flach-filzige Struktur. Die Unterseite ist dunkelgrün. Asparagin-KH_2PO_4 und K_2HPO_4 zeigen nur schwache farblose Anfänge.

Pepton: Es bleibt bei schwachen, staubartigen Bildungen.

Stärke: Auf allen Stärkelösungen wollte der Pilz nicht gut gedeihen. Es trat höchstens schwaches Wachstum auf, indem sich kleine Flocken bildeten, deren farbloses Mycel überwiegend in die Flüssigkeit getaucht ist, während nur ein kleiner Teil, grün gefärbt, ein wenig staubartig herausragt.

Saure und alkalische Substrate: Auf 8-proz. Zitronensäure wächst sehr wenig, auf 5-proz. zeigen sich weißliche Flocken, erst in 2-proz. kommt es zum Grünwerden der Hyphenflocken. Auf 1-proz. und $^1/_4$-proz. Na_2CO_3-Lösung wächst nichts, auf 0,15-proz. zeigt sich in 10 Tagen eine mittelstarke Entwickelung, ähnlich auf $^1/_8$ Proz. Na_2CO_3-Rohrzucker. Ein besseres Wachstum zeigt sich wieder bei der entsprechenden Traubenzuckerlösung. Die Unterseite wird hier tief dunkelgrün. Bei allen diesen Kulturen bleibt die Flüssigkeit klar. Rote Lackmusgelatine wird ein wenig blau, blaue bleibt unverändert. Es ließ sich bei diesem Pilz keine Oxalsäurebildung nachweisen. Die Reaktion der Lösungen blieb schwach alkalisch oder neutral.

Tannin: In Rohrzuckerlösung mit 10 g Tanninzusatz zeigt sich noch schwaches Wachstum.

Milch: Das Wachstum ist stark, die Decke wird unbestimmt grünlich. Sie faltet sich bald außerordentlich kräftig. Das Kaseïn wird völlig verzehrt, so daß die Flüssigkeit klar wird. Die Kultur hatte einen schwachen, angenehmen Geruch.

Besonders typisch ist für diese Art die geschilderte flockige Wuchsform, die Bildung des roten Farbstoffes, das Verhalten auf Stärkelösungen und Kartoffeln. Auffälligerweise erweist sich Rohrzucker für diese Species als schlechtere Kohlenstoffquelle als Traubenzucker. Das Wachstum ist fast überall, mit alleiniger Ausnahme von P. olivaceum, viel weniger kräftig als das der anderen untersuchten Arten.

Eine sorgfältige Vergleichung der Resultate Ohlsens und Thoms mit den vorliegenden Angaben führt zu dem Ergebnis, daß mir die gleiche Art vorgelegen haben muß. Die Wuchsart ist dieselbe, die Farbe, das Verhalten gegen Säuren und Alkalien, das Wachstum auf Milch und anderes. Besonders weitgehende Uebereinstimmung zeigt sich mit Thoms ausführlicher Beschreibung. Ohlsens P. aromaticum casei I stammte von einem Gorgonzolakäse, sein P. aromaticum casei II von einem norwegischen „Gammelost". Beide Pilze betrachtet er wegen ihrer durchgehenden Aehnlichkeit als Varietäten. Thom behauptet, ein und derselbe Pilz käme auf Stilton, Gorgonzola, Brieze, Roquefort vor. Er erklärt das Vorkommen in 4 so entfernten Ländern zum Teil dadurch, daß es eine Eigentümlichkeit dieser Art ist, in Innenräumen wachsen zu können und in engen Spalten und Löchern sich normal zu entwickeln. Dadurch würden alle anderen Arten von dem Reifungsprozeß des Roquefort und verwandter Käsesorten ausgeschlossen. — Thom nennt den Pilz P. roqueforti, um damit einen Anfang mit der Auflösung der Sammelspecies P. glaucum zu machen. Diese Art ist genügend charakterisiert, um zu der Trennung zu berechtigen. Die Rolle des Pilzes soll eine dreifache sein: „Er neutralisiert die Säure, er verzehrt das

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kaseïn, er bringt den typischen Geruch hervor." Nach Thom stammen die Eigentümlichkeiten der genannten Käsesorten mehr von der Verschiedenheit des Materials und der individuellen Behandlung als von Unterschieden der reifenden Organismen.

In großem Maßstabe wird Gorgonzolakäse mit Hilfe von Reinkulturen jetzt in Mailand hergestellt.

Allgemeine physiologische Ergebnisse.

Vergleichende Uebersicht des Nährwertes der Substrate und Kulturlösungen.

Auf allen Gelatinen, mit Ausnahme der sauren und alkalischen, wuchsen die 7 untersuchten Penicillium-Arten kräftig, am wenigsten gut P. olivaceum und roqueforti. Der Unterschied des Nährwertes der Zucker- und gewöhnlichen Gelatinen ist nicht so stark, wie vielleicht zu erwarten war (Ausnahmen: P. juglandis und olivaceum).

Die untersuchten Pilze zeigen gleichmäßig kein oder nur schwaches Gelatineverflüssigungsvermögen; eine äußerst charakteristische Ausnahme macht nur P. musae durch sehr schnelle Verflüssigung. Würzegelatine wurde bei einigen Arten flüssig, es ist aber dabei zu beachten, daß dies nur 8-proz. Gelatinen waren, die anderen dagegen 10-proz.

Auf alkalischen Gelatinen nehmen die Kulturen besonders leicht einen grauen Ton an, auf sauren bleiben sie länger lebhaft gefärbt.

Kartoffel ist im allgemeinen ein sehr zusagendes Substrat. Das Wachstum pflegt außerordentlich üppig zu sein; die Polster zeigen oft eine bedeutende Höhe und überwuchern die Kartoffel völlig. Der Pilz des Gorgonzola und in geringerem Maße auch P. olivaceum machen hier durch ihr kümmerliches Gedeihen eine auffallende Ausnahme. Bemerkenswert ist die intensiv gelbe Färbung der Randzone bei P. kiliense.

Auf gekochtem Reis, auf Zitronen- und Möhrenscheiben bilden sich langsam Ueberzüge, die sich zum größten Teil in der Färbung nur wenig unterscheiden. Die Farbe bleibt monatelang unverändert frisch.

Von flüssigen Nährmedien wurde zunächst Rohrzucker und Traubenzucker verglichen (schwach alkalische Lösungen). Im allgemeinen zeigte sich gleich starkes Wachstum, nur P. kiliense gedeiht auf Rohrzucker entschieden besser, P. roqueforti auffälligerweise schlechter.

Verglichen mit den schwach sauren Traubenzuckerlösungen I und II, zeigten die schwach alkalischen Rohrzuckerlösungen besser das typisch normale Wachstum. Es unterbleibt nämlich die Krümmung der Mycelpolster, die auf I und II nach mehr oder weniger langer Zeit charakteristisch einzutreten pflegt (mit Ausnahme von P. roqueforti, italicum, olivaceum). Sie ist am stärksten bei P. musae, kiliense, juglandis, mittelstark bei P. camemberti.

Auf Glycerin wachsen die Arten ähnlich wie auf I und II.

Als Stickstoffquellen wurden bei den Zuckerlösungen Ammoniumnitrat, KNO_3 und $NaNO_2$ verwandt. Die vergleichenden Kulturen ergaben folgende Resultate: Die Differenz der Wachstumsintensität zwischen den beiden Nitraten war gering (sie wurde für die schwach alkalischen Rohrzucker- und Traubenzuckerlösungen verglichen). Nur für P. roqueforti zeigt KNO_3 ein geringeres Nährvermögen. Das Nitrit vermochte dagegen durchgängig nur eine sehr langsame und schwächliche Entwickelung zu unterhalten. (Wie zu erwarten war, zeigte sich in stickstofffreien Lösungen kein nennenswertes Wachstum.)

Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Als organische N-Quelle, zugleich als C-Quelle, diente Asparagin in den Lösungen Asparagin-K_2HPO_4 und -KH_2PO_4. Es nährt hier nur sehr wenig. P. kiliense und musae bringen es jedoch zur Bildung einer freilich nur dünnen, grünen Decke. Mit den Kulturen Asparagin-rohrzucker, wo Asparagin also nur den Stickstoff liefern mußte, werden dagegen ohne Ausnahme gute Resultate erzielt. Alle Pilze bilden typische, wenn auch nicht gerade üppige, zusammenhängende Decken, am kräftigsten P. musae.

Weiter wurde das Wachstum auf Pepton und Stärke beobachtet (Ammoniumnitrat als N-Quelle). Die Entwickelung in den Peptonlösungen war mäßig, bei weitem am schlechtesten bei P. roqueforti. Auf den Stärkelösungen dagegen zeigte sich gleichmäßiges, ähnlich charakteristisches mittelstarkes Wachstum, wie auf Asparaginrohrzucker; freilich dauert es, wie schon Katz bemerkte, verhältnismäßig lange, bis sich ansehnliche Inseln bilden. Bemerkenswert ist das gänzlich ungenügende Nährvermögen dieser Lösung für P. roqueforti und olivaceum.

Auf Milch wachsen alle Arten gut, nur P. olivaceum zeichnet sich auch hier wieder durch sehr viel schwächeres Gedeihen aus. P. kiliense bildet bald stellenweise den charakteristischen intensiv gelben Rand; bei P. juglandis ist bemerkenswert, daß die Kultur zwar die Koremium-Köpfchen zeigt, die bei dieser Art so häufig auftreten, aber nicht grün wird, sondern weiß bis gelblich-braun bleibt. Das zunächst gefällte Kaseïn wird bei P. kiliense, juglandis, musae und roqueforti allmählich gelöst, so daß die Lösung klar und meist farbig wird, bei P. juglandis z. B. stark rötlich. Bei P. italicum, olivaceum und camemberti bildete das Kaseïn dagegen nach 4 Wochen noch eine dichte, weiße Schicht unter der Decke und am Boden des Kolbens.

Recht verschieden und deshalb wichtig ist das Verhalten der Species gegen Säuren und Alkalien, sowie gegen Tannin. Zunächst einiges über die verschiedene Reaktion gegenüber Zitronensäure und Na_2CO_3:

P. kiliense bildet noch Konidien in 5-proz. Zitronensäurelösung; derselbe Pilz gedeiht eigentümlicherweise noch auf 2-proz. Na_2CO_3-Lösungen, während die untere Grenze der anderen Arten schon zwischen $^1/_4$ und $^1/_8$ Proz. liegt oder sie überhaupt auf alkalischen Lösungen nicht zu wachsen scheinen, wie P. italicum und olivaceum (nur P. camemberti vermag noch bei 1 Proz. normal zu wachsen). Diese weitgehende Anpassung an alkalisches Substrat zeigt sich durch Oxalsäurebildung ermöglicht. In bedeutend geringerem Maße vermögen P. juglandis, musae und italicum durch Produktion dieser Säure zu neutralisieren oder schwach zu säuern. Als praktische Vergleichsversuche erwiesen sich hier die roten und blauen Lackmusgelatinen. P. italicum fruktifiziert noch normal und reichlich in 8-proz. Zitronensäurelösung. P. roqueforti wucherte bei dieser Konzentration auch noch, vermochte aber keine Konidien mehr zu bilden. P. camemberti wuchs noch bei 5 Proz. In allen sauren Lösungen, jedenfalls in denen, deren Konzentration sich der Wachstumsgrenze nähert, zeigen die Arten fast durchgängig starke Krümmungserscheinungen der schwimmenden Myceldecke.

In den Rohrzuckerlösungen mit 10 g Tanninzusatz zu 100 ccm Lösung vermögen nur P. kiliense, roqueforti und juglandis zu wachsen, letzteres allein auch noch bei 25 g Tanninzusatz.

Farbstoffe.

Typisch ist für einige Species die Bildung von Farbstoffen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gelbe Färbung der Unterseite der Polster findet sich oft, seltener wird die ganze Lösung gelb gefärbt; in besonders häufiger und intensiver Weise war dies nur bei P. juglandis der Fall.

P. kiliense zeigte eine ähnliche Färbung vorwiegend fester Substrate, wie Reis und Kartoffel; auch auf Milch fand sich das Gelb. Dieses Gelb ist aber etwas reiner (zitronenfarben), als das des P. juglandis, das einen mehr graurötlichen Ton hat.

Ueber das charakteristische Rot des P. roqueforti in Rohrzuckerlösung ist schon ausführlicher gesprochen.

Erwähnt mag noch werden, daß bei P. musae die Flüssigkeit häufig einen wenig intensiven aber rein grünen Ton annahm.

Alle diese Farbstoffe sind am Licht, jedenfalls einige Tage, haltbar. (Dies sei erwähnt im Anschluß an Beobachtungen Stolls über die Zersetzung von Penicillium-Farbstoffen.)

Es sei noch auf einige anormale morphologische Beobachtungen kurz hingewiesen.

Kleine Abweichungen, besonders im Bau des Konidienträgers, wurden oft gefunden. Eine besonders anormale Ausbildung und Verkürzung zeigte er bei P. juglandis in Asparaginrohrzucker. Unregelmäßige Verbreitung und starke Verzürzung der Zellen der vegetativen Hyphen zeigte P. musae recht häufig bei schlechtem Wachstum.

Trotz mancher Versuche mit Brotkulturen und sorgfältiger Untersuchung alter Kulturen gelang es nicht, Ascusfrüchte von diesen Arten zu erzielen. Nur bei Penicillium kiliense fanden sich in einigen Fällen die schon ausführlicher im speziellen Teil beschriebenen Sklerotien.

Keimfähigkeit der Konidien.

Ueber die Dauer der Keimfähigkeit der Konidien macht Thom einige überraschende Angaben. P. camemberti, auf Kartoffeln im Reagenzröhrchen, wollte nach einem Jahr nicht mehr keimen, andere Arten nicht nach 6 Monaten. Für die dünnwandigen Konidien des Camembertpilzes muß die Feuchtigkeit groß sein, wenn sie nicht austrocknen sollen. Konidien einer gewöhnlichen Kultur, die in Luft bei Zimmertemperatur trocknen, sind nur wenige Wochen zu verwenden. Dazu sei erwähnt, daß mir eine Reihe der gewöhnlichen Penicillium-Sorten ausgegangen waren, als Gelatinekulturen im Hochsommer 10 Wochen unter Watteverschluß und bei Lichtabschluß im Zimmer gestanden hatten.

P. roqueforti soll unter manchen Bedingungen die Keimfähigkeit sehr schnell verlieren. Dazu sei mitgeteilt, daß es mir bei Roquefortkäse mehrmals nicht gelang, Kulturen abzuimpfen, bei Gorgonzola dagegen stets. Ob hier ein spezifischer Unterschied der beiden Varietäten vorliegt oder ob sekundäre Ursachen, wie verschiedenes Alter, Trockenheit und Temperatur der Lagerräume mitsprechen, müßte eine sorgfältige Untersuchung entscheiden.

Wehmer hat 1904 mitgeteilt, daß die Konidien von $2^1/_2$ Jahr alten trocken gelegenen Reagenzglaskulturen (auf Würzezuckergelatine gewachsen), unter Wattepfropfen, von P. luteum, einer rötlichen und einer hell violettrötlichen Art, sich nicht mehr entwickelten. Als er aber die alten Decken selbst mit steriler Lösung übergoß, ging die violette Art noch an. In diesem Fall starben also, wie er es auch für andere Schimmelpilze fand, die Konidien vor dem Mycel ab.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jedenfalls scheint die verbreitete Ansicht von der jahrelangen Lebensfähigkeit der Konidien für einige Penicillium-Arten nicht berechtigt zu sein und es wäre anzunehmen, daß eine erneute und eingehende Prüfung dieser Frage zu interessanten Resultaten kommen würde.

Die untersuchten Species sind, mit alleiniger Ausnahme von Penicillium olivaceum, morphologisch sehr ähnlich. Physiologisch aber

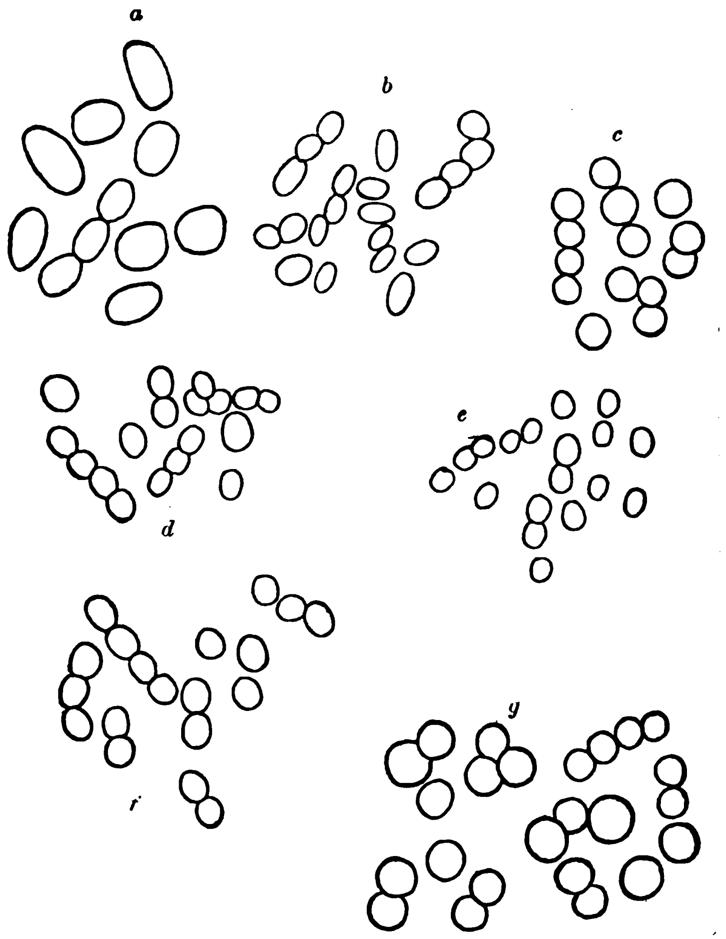


Fig. 8. Konidien bei gleicher Vergrößerung (840). *a* P. olivaceum, *b* P. italicum, *c* P. camemberti, *d* P. juglandis, *e* P. musae, *f* P. kiliense, *g* P. roqueforti.

sind sie recht verschieden. Um dies etwas anschaulich zu machen, möchte ich in Form eines kurzen Bestimmungsschlüssels zeigen, wie die hier behandelten 7 Arten durch wenige Kulturreihen sicher zu trennen sind:

1. a) Wächst auf Stärke gut 2
   b) Wächst auf Stärke schlecht 4
2. a) Wächst und fruktifiziert auf 8-proz. Zitronensäure P. italicum
   b) Wächst auf 8-proz. Zitronensäure nicht 3
3. a) Verflüssigt Gelatine in einer Woche nicht 5
   b) Verflüssigt Gelatine in einer Woche . . . . P. musae
4. a) Wächst auf Rohrzucker-KNO_3 und färbt die Lösung rötlich P. roqueforti
   b) Wächst auf Rohrzucker-KNO_3 nicht, färbt jedenfalls nicht rötlich . . . . P. olivaceum

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5. a) Wächst auf 1-proz. Na_2CO_3 6
b) Wächst auf 1-proz. Na_2CO_3 nicht 7
6. a) Polster auf 2—5-proz. Zitronensäure gekrümmt P. kiliense
b) Polster auf 2—5-proz. Zitronensäure nicht oder wenig gekrümmt . . . . P. camemberti
7. Wächst auf 25-proz. Tanninlösung . . . . . P. juglandis

Meiner Meinung nach wären neue Penicillium-Arten, die sich nicht gerade auf den ersten Blick von der Mehrzahl der Species trennen lassen, in ähnlicher Weise zu untersuchen. Als besonders aussichtsvoll für unterscheidende Ergebnisse erscheinen mir die Kulturen auf Kartoffel, Stärkelösung, Traubenzucker und den Lackmusgelatinen, daneben die Feststellung der Grenzen der Zitronensäure, Na_2CO_3 und Tannin.

Vorliegende Arbeit wurde im botanischen Institut der Universität Kiel im S.S. 1906 begonnen und im S.S. 1907 beendet.

Herrn Geheimrat Professor Dr. Reinke, sowie Herrn Professor Dr. Benecke, die mich zu diesen Untersuchungen anregten, möchte ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen für die wiederholten Ratschläge, mit denen sie meine Arbeit unterstützten.

Herrn Professor Dr. Weigmann bin ich zu herzlichem Dank verpflichtet für die freundliche Ueberlassung einiger Literatur.

Literatur.

Arthaud-Berthet, J., 2e Congrès International de Laiterie. Paris 1905. Rapports prélim. Sect. II. sous-sect. 5C. 1re Question.
Brefeld, Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Leipzig 1874. Heft 2.
Butkewitsch, Umwandlung der Eiweißstoffe durch die niederen Pilze im Zusammenhang mit einigen Bedingungen ihrer Entwickelung. (Pringsheims Jahrbücher. Bd. XXXVIII. 1903.)
Conn, Thom, Bosworth, Stocking and Issajeff, Storrs Agric. Experim. Stat. Storrs Conn. 1906. Bull. No. 35.
Epstein, Untersuchungen über die Reifung von Weichkäsen. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIII. 1902; Bd. XLV. 1902.)
Fischer, in: Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. 1897. Bd. I. Heft 1.
Guérault, P., 2e Congrès Int. de Laiterie etc. Paris 1905.
Johan-Ohlsen, Undersögelser over Ost og Ostegjœring. Kristiania 1905.
Katz, J., Die regulatorische Bildung von Diastase durch Pilze. (Pringsheims Jahrb. Bd. XXXI. 1898.)
Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3. Aufl. 1901.
Mazé, 2e Congrès Intern. de Laiterie etc. Paris 1905.
—, Les microbes dans l'industrie fromagère. (Ann. Pasteur. T. XIX. 1905.)
Müller-Thurgau, Mykologie der Haltbarmachung des Obstes. (Handb. d. techn. Mykol. Bd. V 1. II. Abschn. Jena 1905.)
Saccardo, Sylloge fungorum. Bd. IV. 1886; Bd. X.
Schröter, Cohns Kryptogamenflora. Bd. III. 2. Lief. 2. 1893.
Stoll, Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von P.-Arten. Diss. Würzburg 1905.
Thom, Fungi in cheese ripening: Camembert and Roquefort. (U. S. Dep. of Agric. Bureau of animal industry. Bull. No. 71 and 82. Washington 1905.)
Wehmer, Morphologie, Physiologie und Systematik einiger technisch wichtiger höherer Ascomyceten und verwandter Formen. (Handb. d. techn. Mykol. Bd. IV. Abschn. 4. Jena 1906.)
—, Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Heft. 1. 1893. Heft 2. 1895.
—, Ueber die Lebensdauer eingetrockneter Pilzkulturen. (Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. XXII. 1904.)
Weigmann, Die Gärungen der Milch und der Abbau ihrer Bestandteile. (Handb. d. techn. Mykol. Bd. II. Abschn. 2. Jena 1906.)
Winter, Rabenhorsts Kryptogamenflora. Bd. I. Abt. 2. 1887.

Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces.

Von **Walther Krieg,** Bern.

Mit 1 Abbildung.

(Schluß.)

Diese Pflanze scheint ganz besonders den Angriffen von Blattläusen ausgesetzt zu sein. Das Versuchsexemplar war am 26. Mai ganz mit diesen lästigen Schädlingen bedeckt und ging wenige Tage später ein, so daß es nicht einmal zur Bildung von Aecidien gekommen war.

Es geht aus den Versuchen XXVII—XXX hervor, daß ein Aecidium auf Ran. bulbosus in den Entwickelungskreis eines Uromyces Dactylidis gehört.

Vergleichen wir die Ergebnisse von Reihe XXVII—XXX mit denjenigen der Reihen XXV und XXVI, so scheint mir der Schluß berechtigt, daß es sich in diesen Versuchen um ein und denselben Pilz handeln kann, nämlich um eine f. sp. des Uromyces Dactylidis, die sowohl auf Ran. repens als auf Ran. bulbosus ihre Aecidien bildet.

Für diese Ansicht sprechen folgende Tatsachen: Mit Teleutosporenmaterial von Meikirch wurde das erste Mal Ran. bulbosus, das zweite Mal Ran. repens erfolgreich infiziert (vgl. XXX und XXVI), während Urom. Dactylidis von Burg bei Thörishaus auf Ran. repens überging (Reihe XXV). Es handelt sich also wohl um ein und dieselbe biologische Art.

Immerhin ist der zwingende Beweis der Identität der Aecidien auf Ran. bulbosus und repens, mit denen in den genannten Reihen experimentiert worden ist, oder die aus den Versuchen gewonnen worden sind, nicht geleistet, weshalb ich ihre Vereinigung nicht glaubte vornehmen zu dürfen. Entweder ließ die Keimfähigkeit des Infektionsmaterials bedeutend zu wünschen übrig, oder aber es fehlte an den notwendigen Versuchspflanzen, indem von den beiden in Frage kommenden Arten nur Ran. repens zur Verfügung stand.

6. Aecidium auf Ranunculus auricomus.

Die im folgenden beschriebenen Infektionsversuche, die ich mit diesem Aecidium ausführte, bilden eine Bestätigung der erstmals von Bubák publizierten Zusammengehörigkeit mit einem Uromyces vom Typus des Uromyces Poae.

Versuchsreihe XXXI.

Das Material, womit ich am 10. Mai 1905 Poa nemoralis, pratensis, annua, alpina, Dactylis glomerata, Rumex Acetosa, Acetosella, obtusifolius infizierte, war von Herrn Pfarrer D. Cruchet in Montagny bei Yverdon gesammelt worden.

24. Mai. Auf Poa pratensis die ersten Uredo-Lager beobachtet. Sämtliche Versuchspflanzen, vor allem Poa nemoralis, waren durch Schneckenfraß stark geschädigt.

27. Mai. Poa pratensis mit zahlreichen, gut verteilten Uredo-Lagern.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6. Juni. Nebst Uredo ziemlich zahlreiche Teleutosporen vorhanden. Eine am 20. Juni untersuchte Probe erwies die Zugehörigkeit dieser Teleutosporen zum Typus des Uromyces Poae.

27. Juli. Fast ausschließlich Teleutosporen vorhanden.

Infektionsversuche mit Uredosporen.

Versuchsreihe XXXII.

Die in XXXI auf Poa pratensis erhaltenen Uredosporen wurden am 30. Mai 1905 auf folgende Gräser verteilt, die ausschließlich Setzlinge (größtenteils aus Zürich bezogen) waren: Poa annua, alpina v. fructifera, sudetica, bulbosa, compressa, nemoralis, violacea, fertilis, pratensis, trivialis, Dactylis glomerata. — Die von wenigen Blättern genommenen Uredosporen reichten zu einer kräftigen Infektion nicht hin, so daß nur der auf Poa pratensis erzielte Erfolg mit Sicherheit als von der künstlichen Infektion herrührend bezeichnet werden darf. Die schon am 6. Juni auf Poa nemoralis aufgetretenen spärlichen jungen Uredo-Lager müssen einer Fremdinfektion zugeschrieben werden, um so mehr, als am gleichen Tage auch Poa violacea zwei schon entwickelte Lager aufwies, und weil unter der aus Zürich am 23. Mai angekommenen Sendung, der diese Versuchspflanzen angehörten, einige Exemplare Poa nemoralis sich als infiziert erwiesen. Ich notiere daher nur einige auf Poa pratensis bezüglichen Beobachtungen.

17. Juni. Poa pratensis auf einigen Blättern reichlich Uredo.

18. Juli. Auf Poa pratensis neben Uredo ziemlich viele Teleutosporen vom Typus des Uromyces Poae.

Eine Sendung Poa pratensis, die Herr Cruchet an der Fundstelle des Aecidium auf Ran. auricomus gesammelt und mir am 29. Mai zugestellt hatte, war mit Teleutosporen vom gleichen Typus behaftet.

Versuchsreihe XXXIII.

Mit Uredo auf Poa pratensis, entnommen Versuchsreihe XXXI. infizierte ich am 10. Juli 1905 folgende Keimlinge: Dactylis glomerata, Poa pratensis, trivialis, nemoralis, violacea.

18. Juli. Poa pratensis mehrere hervorbrechende Uredo-Lager.

24. Juli. Poa pratensis ziemlich reichlich infiziert. Infektion von Poa nemoralis schwach bis mittelstark (auf ca. 10 Blättern spärliche Lager.)

27. Juli. Poa pratensis reichlich Uredo- und Teleutosporen. Infektion von Poa nemoralis gleich geblieben; auch hier Teleutosporen vorhanden. — Die Teleutosporen beider Nährpflanzen waren vom Typus des Uromyces Poae[1]). — Die anderen Poa-Arten und Dactylis blieben gesund.

Ergebnis der Versuchsreihen XXXI—XXXIII: Ran. auricomus und Poa pratensis sind die Wirte eines Uromyces Poae.

---

1) Ein Versuch, mit Teleutosporen, die Poa pratensis aus den Reihen XXXI—XXXIII am 29. Juli und 10. August 1905 waren entnommen worden, am 30. April und 1. Mai 1906 verschiedene Ranunculus-Arten zu infizieren, hatte negativen Erfolg. Der Umstand, daß auch Ran. auricomus pilzfrei blieb, mag neben anderen Ursachen auch darin begründet sein, daß diese Versuchspflanze infolge geringer Widerstandsfähigkeit früh einging.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine Nebenwirtspflanze der Teleutosporenform dieses Pilzes ist Poa nemoralis.

C. Zusammenstellung aller bisher über die Spezialisation von Ranunculus-Arten bewohnenden Uromyces experimentell festgestellten Ergebnisse.

Klebahn hat in seiner ausgezeichneten Bearbeitung der wirtswechselnden Rostpilze (5) bereits eine Zusammenstellung der Resultate über Ranunculus bewohnende Uromyces gegeben. Seither sind die Kenntnisse gerade dieser Pilzgruppe bedeutend erweitert worden, weshalb sich eine erneute Zusammenstellung mit Berücksichtigung der in den letzten Jahren gewonnenen Ergebnisse rechtfertigt.

1. Aecidium Ficariae.

Schroeter (11) infizierte mit Aecidium Ficariae Persoon Ficaria verna Huds. und Poa nemoralis. Der Versuch wurde mehrmals wiederholt, mit dem Erfolg, daß auf Poa nemoralis Uredo ohne Paraphysen und später Teleutosporen ähnlich denjenigen vom Typus des Uromyces Dactylidis Otth, aber durch den Mangel der Paraphysen bei der Uredoform unterschieden, sich entwickelten. Dies erschien Schroeter um so bemerkenswerter, als Uromyces Dactylidis mit der von Paraphysen begleiteten Uredoform ebenfalls auf Poa nemoralis vorkommt. Er bezeichnet deshalb den zum Aecidium Ficariae gehörenden Uromyces auf Poa nemoralis mit Uromyces Poae Rabenhorst.

Plowright (9) machte in den Jahren 1883 und 1884 mit einem Aecidium Ficariae Infektionsversuche. Er fand, daß es auf Poa nemoralis, sowie auf Dactylis glomerata keinen Erfolg hat, wohl aber auf Poa trivialis. Der Uebergang des Aecidium auf Poa trivialis wurde allerdings bloß durch einen einzigen Versuch bewiesen.

Tranzschel (13) führte mit Teleutosporen tragenden Blättern von Rumex obtusifolius [Uromyces Rumicis (Schum.) Winter] Infektionsversuche aus auf Ficaria verna, mit dem Resultat, daß auf Ficaria eine sehr starke Infektion auftrat. Eine Rückinfektion auf Rumex obtusifolius war erfolgreich. Leider wurden in die Versuche Tranzschels keine Poa-Arten einbezogen.

Bubák (3) versuchte im Frühjahr 1905, mit Aecidium Ficariae je zwei Keimpflanzen von Rumex obtusifolius, Poa pratensis und palustris zu infizieren. Ein Erfolg trat ein auf Poa pratensis.

In meinen während der Sommerhalbjahre 1905 und 1906 mit einem Aecidium Ficariae durchgeführten Versuchen (7 und 8) experimentierte ich mit folgenden Gräsern und Rumex-Arten: Poa annua, alpina, alpina var. fructifera, violacea, sudetica, compressa, bulbosa, fertilis, pratensis, nemoralis, trivialis, palustris, Dactylis glomerata; Rumex Acetosa, Acetosella, obtusifolius, crispus, alpinus, hydrolapathum. Es stellten sich dabei als Wirte der Uredo- und Teleutosporenform dieses Pilzes heraus Poa trivialis und palustris.

Eine im Frühjahr 1907 mit Teleutosporenmaterial auf Poa trivialis und palustris, das in Versuchsreihen herangezogen worden, versuchte Rückinfektion von Ficaria verna hatte einen vollen Erfolg. Nichtinfiziert wurden dagegen: Ran. auricomus, lanuginosus,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

repens, acer. — Demnach ist für Aecidium Ficariae bisher folgende Spezialisation nachgewiesen:

1. Urom. Poae f. sp. auf (Poa trivialis), palustris und Ficaria verna [(Plowright) und eigene Versuche].
2. Urom. Poae f. sp. auf Poa nemoralis und Ficaria verna [Schroeter].
3. Urom. Poae f. sp. auf Poa pratensis und Ficaria verna [Bubák, Plowright[1])].
4. Urom. Rumicis auf Rumex obtusifolius und Ficaria verna [Tranzschel].

Vielleicht ist 2. und 3. identisch. Jedenfalls ist der Beweis ihrer Nichtidentität nicht geleistet, es sei denn durch einen fraglichen Versuch von Plowright. [vgl. (5), p. 324.]

2. Aecidium auf Ranunculus platanifolius.

Ueber die Zugehörigkeit dieses Aecidium war bisher nichts bekannt. Durch eine Reihe von Infektionsversuchen in den Jahren 1905 bis 1907 gelang es mir, festzustellen, daß es zu einer besonderen biologischen Art des Uromyces Dactylidis Otth gerechnet werden muß.

Zu den Infektionsversuchen mit dem Aecidium wurden nachstehend aufgeführte Poa-Arten, sowie Dactylis glomerata beigezogen: Poa alpina, alpina var. vivipara, violacea, sudetica, bulbosa, compressa, fertilis, caesia, cenisia, annua, nemoralis, trivialis, pratensis, dazu noch Festuca Halleri. Ein Erfolg trat ausschließlich auf Dactylis ein. — Zur Feststellung der Aecidienwirte dienten bei der Infektion mit Teleutosporen (Urom. Dactylidis) vom Standort des Aecidium auf Ran. platanifolius folgende Versuchspflanzen: Ran. platanifolius, aconitifolius, glacialis, alpestris, rutaefolius, silvaticus, lanuginosus, auricomus, repens, acer, bulbosus, Ficaria verna. Gestützt auf die Versuchsergebnisse dürfen als unzweifelhafte Aecidiennährpflanzen bezeichnet werden:

Ranunculus platanifolius, aconitifolius, alpestris und glacialis.

Spezialisation.

Urom. Dactylidis nov. f. sp. auf Dactylis glomerata und Ran. platanifolius, aconitifolius, alpestris, glacialis [eigene Versuche].

3. Aecidium auf Ranunculus silvaticus.

Auch mit diesem Aecidium ist meines Wissens noch nicht experimentiert worden. Ein von mir im Sommer 1906 an Dactylis glomerata, Poa pratensis, violacea, nemoralis, trivialis, compressa ausgeführter Infektionsversuch hatte Uredo-Entwickelung auf Dactylis zur Folge. Die Uredo besaß die für die Uredo von Urom. Dactylidis beschriebenen Merkmale. Da außerdem am Standort des Aecidium mit Uredo- und Teleutosporen befallene Dactylis-

---

1) Bezüglich der Angabe, daß auch Plowright die Zugehörigkeit eines Aecidium Ficariae zu Uromyces Poae f. sp. auf Poa pratensis experimentell darlegte, verweise ich auf Klebahn (5). Es scheint aber nicht sicher zu sein, daß es sich um ein Aecidium Ficariae handelt. Die betreffende Publikation von Plowright stand mir nicht zur Verfügung.

Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Blätter sich fanden (Teleutosporen vom Typus des Urom. Dactylidis), so dürfen wir mit Sicherheit schließen, daß ein Aecidium auf Ran. silvaticus in den Entwickelungskreis eines Urom. Dactylidis gehört, obschon es im Versuch infolge Absterbens der Wirtspflanze nicht zur Teleutosporenbildung gekommen war.

Die Spezialisation ist nur für die Teleutosporennährpflanze geprüft:

Urom. Dactylidis nov. f. sp. auf Dactylis glomerata und Ran. silvaticus [eigener Versuch].

4. Aecidium auf Ranunculus repens.

Plowright (9) bewies experimentell, daß ein Aecidium auf Ran. repens auf Poa trivialis sich weiter entwickelt, dagegen nicht auf Poa nemoralis und annua. In einer Serie von 7 Versuchen, mit Aecidium Ranunculi-repentis Dactylis glomerata zu infizieren, trat kein Erfolg ein. Der umgekehrte Versuch, mit Teleutosporen von Urom. Dactylidis auf Ran. repens ein Aecidium zu erzeugen, ergab gleichfalls ein negatives Resultat. — In 7 von 10 Versuchen, mit Aecidiosporen auf Ran. repens Poa trivialis und pratensis zu infizieren, blieb der erwartete Erfolg aus. Plowright bemerkt dazu, daß manchmal aus geringfügigen Ursachen der erwartete Infektionserfolg nicht eintritt und daß insbesondere Versuche mit Aecidiosporen häufig fehlschlugen. Als Gründe nennt er: a) kurze Dauer der Keimfähigkeit, b) geringe Zahl gleichzeitig im Aecidium vorhandener keimfähiger Sporen.

Bubák (1) führte im Frühjahr 1902 mit Teleutosporen tragenden Blättern von Poa nemoralis (Urom. Poae) Infektionsversuche aus auf Ran. nemorosus (= silvaticus), repens, bulbosus und Ficaria verna. Ein Erfolg trat einzig auf Ran. repens und bulbosus ein (vergl. unter: „Aecidium auf Ran. bulbosus", p. 777), dagegen nicht auf Ran. silvaticus, obschon am Standort des Uromyces Ran. silvaticus (nemorosus) Aecidien trug. Bubák sagt dazu: „Es bleibt also unaufgeklärt, zu welchem Pilze die Aecidien auf Ran. nemorosus gehören" (vgl. mein diesbezügliches Resultat).

Klebahn (5) führt von Nielsen an, dieser habe aus Aecidien auf Ran. repens einen Uromyces auf Poa trivialis und annua erhalten, während Dactylis glomerata pilzfrei blieb; trotzdem bezeichne Nielsen den Pilz als Urom. Dactylidis.

An gleicher Stelle steht in Klebahn, Die wirtswechselnden Rostpilze, folgende Angabe: „Bubák gibt unter Urom. Poae, Aecidien auf Ran. repens, folgende Notiz: ‚Kulturversuche am 29./X., erste Uredohäufchen erst am 24./XI. auf Poa annua'".

Durch eigene Versuche habe ich gezeigt (8), daß ein Aecidium auf Ran. repens Poa trivialis zu infizieren vermag, nicht aber Dactylis glomerata und Poa pratensis.

Dagegen vermochte ich mit Teleutosporen eines Uromyces Dactylidis auf Ran. repens ein Aecidium zu erzeugen, während gleichzeitig Ran. acer, auricomus, lanuginosus, alpestris, aconitifolius, platanifolius und Ficaria verna pilzfrei blieben.

Aus all diesen Ergebnissen können wir für Aecidium Ranunculi-repentis etwa folgende Spezialisation konstruieren (vgl. damit die Spezialisation von Aec. Ran.-bulbosi):

1. Urom. Dactylidis f. sp. auf Dactylis glomerata und Ran. repens, bulb., acer, polyanthemus [Schroeter].

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2. Urom. Dactylidis nov. f. sp.? auf Dactylis glomerata und Ran. repens [eigene Versuche].
3. Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis und Ran. repens [Plowright und eigener Versuch].
4. Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis und annua (annua) und Ran. repens [Nielsen, (Bubák)].
5. Urom. Poae f. sp. auf Poa nemoralis und Ran. repens, bulbosus [Bubák].

Vergleichen wir diese Zusammenstellung der Spezialisation von Aecidium Ranunculi-repentis mit derjenigen von Aecidium Ranunculi-bulbosi (p. 25), so sehen wir, daß die beiden Aecidien teilweise identisch sind, nämlich forma speciales unter 1. oben ist identisch mit der ebenfalls als Nummer 1 aufgeführten Form auf p. 777; ebenso sind die Nummern 5 oben und 4 auf p. 777 übereinstimmend. Vielleicht ist auch No. 2 hier und dort identisch (vgl. darüber die Ausführungen auf p. 771).

Diskutieren wir kurz vorstehende Uebersicht der Spezialisation von Aecidium Ranunculi-repentis:

Vielleicht müssen die unter 1. und 2. aufgeführten biologischen Arten vereinigt werden, da nicht ausgeschlossen erscheint, daß entweder der in meinen Versuchen benutzte Uromyces Dactylidis außer Ran. repens auch die von Schroeter genannten Species zu infizieren vermag (obschon in der sonst wohl als gelungen zu bezeichnenden Versuchsreihe XXVI Ran. acer durchaus gesund blieb), oder aber, daß in den Versuchen Schroeters Fehler vorliegen. Vielleicht ist letzteres wahrscheinlicher, da es seit Schroeter niemand gelungen ist, mit einem Urom. Dactylidis Ran. acer, oder umgekehrt, mit einem Aecidium auf Ran. acer Dactylis glomerata zu infizieren.

Möglicherweise sind auch die unter 3. und 4. genannten Formen identisch, obgleich Plowright eine Infektion von Poa annua nicht gelungen ist.

Die unter 4. zusammengefaßten Formen sind wohl kaum zu trennen; aus der oben aus Klebahn angeführten Notiz ist allerdings nicht ersichtlich, mit was für Versuchspflanzen Bubák experimentiert hat. Ich nehme aber an, daß der von ihm herangezogene Pilz auch auf Poa trivialis übergegangen sein würde. — Berücksichtigen wir endlich noch das bei der Beschreibung meiner Infektionsversuche über die Aecidien auf Ran. repens und bulbosus Gesagte, wonach ich sie (soweit das von mir benutzte Infektionsmaterial in Betracht kommt) als identisch ansehe, so läßt sich obige Zusammenstellung vielleicht auf folgende drei Formen zurückführen:

1. Urom. Dactylidis f. sp. auf Dactylis glomerata und Ran. repens, bulbosus [Schroeter, eigene Versuche].
2. Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis, annua und Ran. repens [Plowright, Nielsen, Bubák, eigener Versuch].
3. Urom. Poae f. sp. auf Poa nemoralis und Ran. repens, bulbosus [Bubák].

5. Aecidium auf Ranunculus bulbosus.

Schroeter (11) gibt an, daß der Uromyces Dactylidis Otth mit einem Aecidium auf Ran. bulbosus und repens zusammenhängt. Auf andere Ranunculus-Arten ausgesätes Material von Urom. Dactylidis erzeugte außerdem ein Aecidium auf Ran. acer und

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

polyanthemus (vgl. obige Ausführungen!), nicht aber auf Ran. Flammula und auricomus.

Plowright (9) bestreitet die Richtigkeit der bezüglichen Resultate von Schroeter. Infektionsversuche mit Aecidium Ranunculi-bulbosi hatten stets Erfolg auf Dactylis, nicht auf Poa pratensis und annua. Auch die Umkehrung des Versuches (mit Urom. Dactylidis Ran. bulbosus zu infizieren) war erfolgreich. Versuche, mit Urom. Dactylidis Ran. repens, acer, auricomus und Ficaria verna zu infizieren, hatten stets negativen Erfolg; auch die Versuche, mit Aecidium Ranunculi-repentis Dactylis und Poa nemoralis zu infizieren, schlugen fehl. „Daraus erhellt, daß Uromyces Dactylidis seine Aecidiosporen nur auf Ran. bulbosus hat und nicht auf Ran. repens oder acer."

Bubák (1) erhielt mit Uromyces Poae auf Poa nemoralis ein Aecidium auf Ran. bulbosus und repens. Dagegen hatte er (3), im Gegensatz zu Schroeter, Plowright und mir, mit Aecidium Ranunculi-bulbosi Erfolg auf Festuca ovina und nicht auf Dactylis glomerata, Anthoxanthum odoratum, Festuca rubra, Poa pratensis und nemoralis. Bubák stellt fest, daß dieser Pilz identisch ist mit Uromyces Festucae Sydow. Nach ihm enthalten die Teleutosporenlager, wie diejenigen von Urom. Poae und Urom. Dactylidis, braune Paraphysen.

In mehreren meiner eigenen Versuche, in denen Aecidium Ranunculi-bulbosi von weit auseinander liegenden Standorten zur Verwendung kam, wurde stets Dactylis glomerata infiziert, dagegen nicht Poa annua, pratensis, trivialis, nemoralis, compressa, violacea, palustris; Rumex Acetosa, obtusifolius, hydrolapathum, alpinus. — In einem einzigen Rückinfektionsversuch, wozu mir aber beinahe keimungsunfähiges Teleutosporenmaterial (Urom. Dactylidis) zur Verfügung stand, erzielte ich einen sehr schwachen Erfolg auf Ran. bulbosus. Da in diesem Falle die negativen Resultate auf den übrigen in den Versuch einbezogenen Ranunculus-Arten keinen Wert haben, so lasse ich deren Namen weg.

Aus diesem Versuch und aus anderen Versuchen mit Urom. Dactylidis, in denen eine Infektion von Ran. repens gelang (vgl. die Beschreibung der bezüglichen Versuche), scheint hervorzugehen, daß sowohl Ran. bulbosus, als auch Ran. repens die Aecidienwirte einer und derselben biologischen Art des Urom. Dactylidis bilden.

Spezialisation.

1. Urom. Dactylidis f. sp. auf Dactylis glomerata und Ran. bulb., repens, acer, polyanthemus [Schroeter].
2. Urom. Dactylidis f. sp. auf Dactylis glomerata und Ran. bulbosus [Plowright und eigene Versuche].
3. Urom. Festucae Sydow auf Festuca ovina und Ran. bulbosus [Bubák].
4. Urom. Poae f. sp. auf Poa nemoralis und Ran. bulbosus und repens [Bubák].

Aus den gleichen Gründen, die ich für die Reduktion der Zahl der biologischen Formen unter „Aecidium auf Ran. repens" geltend gemacht habe, können wir auch hier eine Zurückführung der 4 Arten auf 3 versuchen.

Wir erhalten dann etwa:

1. Urom. Dactylidis f. sp. auf Dactylis glomerata und

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ran. repens, bulbosus [Schroeter, eigene Versuche] (aus 1 und 2).

2. Urom. Festucae Sydow auf Festuca ovina und Ran. bulbosus [Bubák].
3. Urom. Poae f. sp. auf Poa nemoralis und Ran. bulbosus und repens [Bubák].

Gegen die Vereinigung von 1. und 2. sprechen allerdings die Resultate von Plowright, dem es nie gelang, mit Urom. Dactylidis Ran. repens und mit Aecidium Ranunculi-repentis Dactylis glomerata zu infizieren.

Vergleichen wir endlich diese 3 biologischen Arten mit den gleichfalls auf 3 reduzierten auf p. 776, so ergibt sich die Identität der beiden unter 1. sowohl, wie unter 3. angeführten ohne weiteres, und es bleibt von den biologischen Arten, die auf Ran. repens die Aecidienform bilden, nur eine übrig, die ausschließlich auf Ran. repens diese Sporenform zu erzeugen vermag, es ist dies ein Uromyces Poae.

In gleicher Weise sehen wir, daß es unter all diesen Formen nur eine gibt, die nur auf Ran. bulbosus Aecidien entwickelt, es ist ein Uromyces Festucae, mit anderen Worten: Mit einer einzigen Ausnahme beherbergen Ran. repens und bulbosus die nämlichen Uromyces-Arten. Ich darf diesen Satz freilich nicht als bewiesen, aber doch als durch die bisherigen Infektionsergebnisse wahrscheinlich gemacht hinstellen [1]).

6. Aecidium auf Ranunculus auricomus.

Bubák (2) war der erste, der die Zugehörigkeit dieses Aecidium zu Uromyces Poae auf Poa pratensis feststellte.

Tranzschel (13) gelang es kurze Zeit später, mit Aecidiosporen auf Ran. auricomus Poa pratensis zu infizieren. Dabei blieben Poa nemoralis und trivialis pilzfrei. Weitere Bestätigungen erhielten diese Resultate durch Juels (4) und meine eigenen Versuche (7). In letzteren wurden teils mit Aecidiosporen auf Ran. auricomus, teils mittelst in den Versuchen erzielter Uredo auf Poa pratensis Infektionen ausgeführt von Poa pratensis, nemoralis, annua, alpina, alpina v. fructifera, trivialis, fertilis, compressa, violacea, bulbosa, sudetica, Dactylis glomerata; Rumex Acetosa, Acetosella, obtusifolius.

Jedesmal trat ein Erfolg ein auf Poa pratensis, in einem an Keimlingen angestellten Versuch wurde, aber bedeutend schwächer als Poa pratensis, auch Poa nemoralis infiziert. Die Spezialisation ist nur für den Teleutosporenwirt untersucht.

Urom. Poae f. sp. auf Poa pratensis (und nemoralis) und Ran. auricomus [Bubák, Tranzschel, Juel (eigene Versuche)].

---

1) Da Bubák in den Versuch mit einem Aecidium Ranunculi-bulbosi, der dessen Zugehörigkeit zu Urom. Festucae Sydow bewies, weder Poa trivialis, noch Poa annua einbezog (die Teleutosporen-Nährpflanzen eines Aecidium Ranunculi-repentis), da ferner weder Plowright, noch Nielsen, noch Bubák, noch ich, bei den Infektionsversuchen mit Aecidium Ranunculi-repentis Festuca ovina (den Teleutosporenwirt eines Aecidium auf Ran. bulbosus) benutzte, kann nicht bestimmt gesagt werden, ob Urom. Festucae Sydow und Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis und annua am Ende auch noch identisch sind. Wäre dies der Fall, so wüchsen auf Ran. repens und bulbosus ein und dieselben Uromyces-Arten.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7. Aecidium auf Ranunculus lanuginosus.

Klebahn (6) führte mit Uromyces Dactylidis Infektionsversuche aus auf Ran. lanuginosus, repens, bulbosus, auricomus, und erzeugte auf diese Weise ein Aecidium auf Ran. lanuginosus. Am Standort des Uromyces war das Aecidium auf Ran. lanuginosus vorhanden; ein Versuch, damit Dactylis zu infizieren, sowie ein späterer Versuch mit dem künstlich erzeugten Aecidium hatten aber keinen Erfolg. Klebahn bezeichnet diese biologische Form des Urom. Dactylidis als Uromyces Lanuginosi-Dactylidis.

Urom. Dactylidis f. sp. auf Dactylis glomerata und Ran. lanuginosus [Klebahn].

8. Aecidium auf Ranunculus parnassifolius.

Semadeni (12) stellte experimentell fest, daß das bis jetzt nur selten beobachtete Aecidium auf Ran. parnassifolius L. auf Trisetum distichophyllum (Vill.) Pal. Uredo- und Teleutosporen vom Typus eines Uromyces entwickelt. Er nennt den Pilz Uromyces Ranunculi distichophylli Sem. (Infektionsmaterial von ihm bei Poschiavo, Graubünden, gesammelt worden.) Näheres über die Versuche ist nicht publiziert.

Urom. Ranunculi distichophylli f. sp. auf Trisetum distichophyllum und Ran. parnassifolius [Semadeni].

9. Aecidium auf Ranunculus acer.

Schroeter (11) will mit Teleutosporen von Urom. Dactylidis auf Ran. acer, polyanthemus, repens und bulbosus Aecidien erzielt haben.

Plowright (9) dagegen erzielte mit einer Aussaat des Aecidium auf Ran. acer auf Poa trivialis, nemoralis, pratensis, compressa (?), Dactylis glomerata und Lolium perenne keinen Erfolg. Ebenso ergaben Infektionen von Ran. acer mit Urom. Dactylidis ein negatives Resultat.

[Nach Plowright, Klebahn und Dietel gehört ein Aecidium auf Ran. acer zu Pucc. perplexans auf Alopecurus pratensis (Klebahn, Dietel), nach Plowright außerdem auf Avena elatior und Poa sp. (?)].

Es steht demnach die Angabe von Schroeter bisher allein, wonach eine Form von Urom. Dactylidis in der Aecidiengeneration auf Ran. acer, polyanthemus, repens und bulbosus wächst.

D. Diskussion der Versuchsergebnisse.

Eine zurzeit möglichst vollständige Uebersicht über die Wirtswechselbeziehungen der heterözischen Ranunculus-Arten bewohnenden Uromyces gibt die Tabelle „Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces“ (p. 780). Ich habe darin auch solche Formen voneinander getrennt eingetragen, die durch spätere Untersuchungen in eine einzige biologische Art vereinigt werden dürften und mich darauf beschränkt, solche mir notwendig scheinenden Zusammenziehungen im Text vorzunehmen und zu begründen.

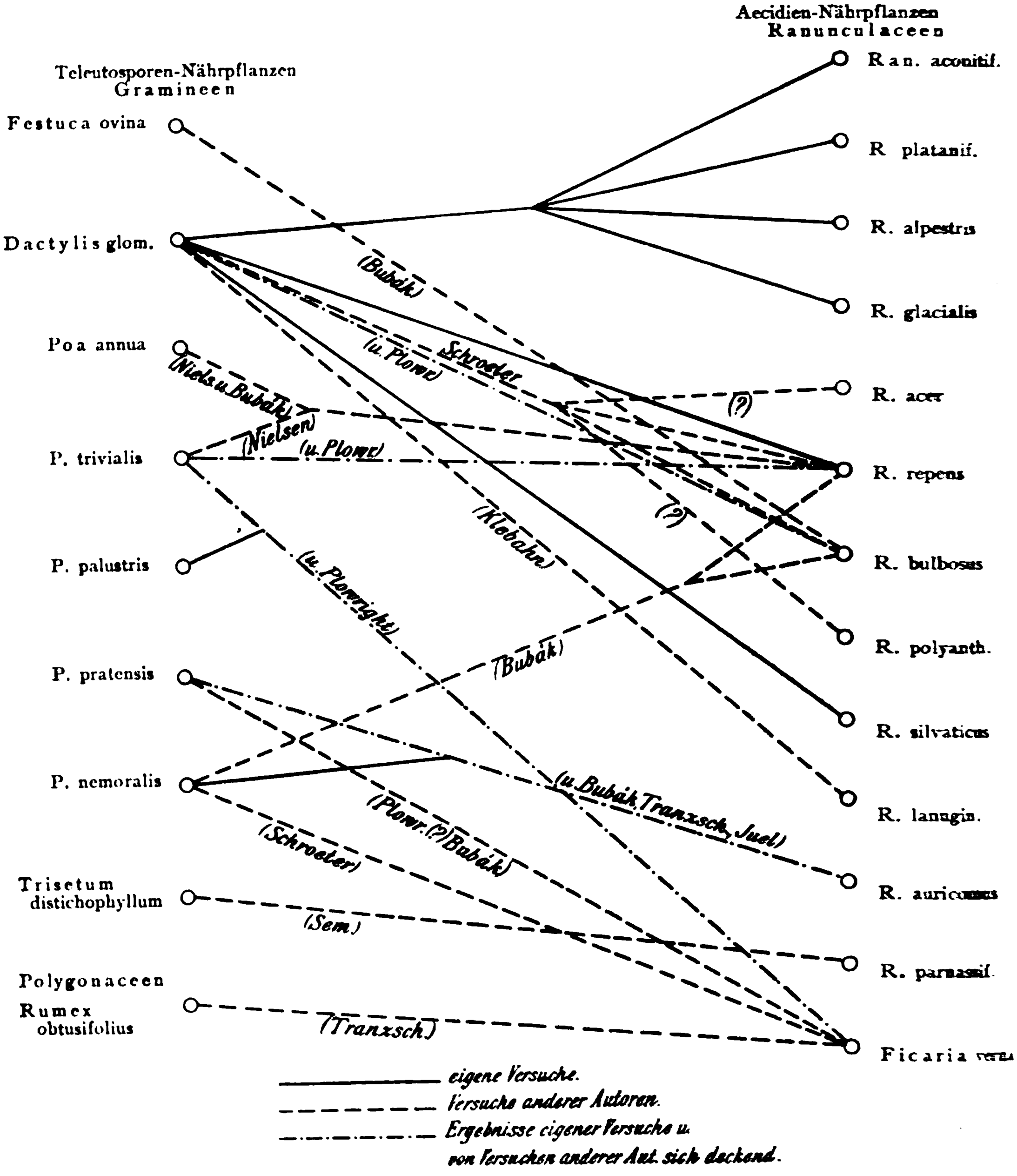
Ich habe diese Art der Darstellung [nach dem Vorbilde von Klebahn (5)] gewählt, weil sie gestattet, mit einem Blick die komplizierten Verwandtschaftsverhältnisse dieser Pilzgruppe zu überschauen. Die Ueber-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sicht macht eigentlich jede Diskussion über die Beziehungen dieser Pilze untereinander überflüssig. Ich will deshalb nur einige Punkte berühren.

Wir können zunächst, gestützt auf die Wahl der Teleutosporen-Nährpflanze, die folgenden fünf Uromyces-Arten unterscheiden: 1) Uromyces Festucae; 2) Urom. Dactylidis; 3) Urom.

Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces.



Poae; 4) Urom. Ranunculi distichophylli; 5) Urom. Rumicis.

Nach bisherigen Untersuchungen müssen 2) und 3) (Urom. Dactylidis und Urom. Poae) in eine Anzahl biologische Arten aufgelöst werden. Ob dies auch für 1), 4) und 5) zu geschehen hat, müssen weitere Forschungen lehren. — Die Sammelspecies Uromyces Dactylidis

Generated on 2019-09-21 18:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Otth dürfte in vier formae speciales aufzulösen sein, nämlich in a) Urom. Platanifolii-Dactylidis, b) Urom. Silvatici-Dactylidis, c) Urom. Lanuginosi-Dactylidis, e) in eine biologische Art, die ihre Aecidien auf Ran. bulbosus und repens entwickelt.

Für Uromyces Poae sind die biologischen Arten noch wenig scharf abgegrenzt. Wenn ich diese Species vorläufig als aus sechs formae speciales zusammengesetzt hinstelle, so ist dies als ein bloßer Versuch zu betrachten, in die komplizierten Beziehungen dieser Formen zueinander einige Klarheit zu bringen, oder, könnte man mit einiger Berechtigung auch sagen, sie in ein System hineinzuzwängen.

Teleutosporen-Nährpflanze.	Aecidien-Nährpflanze.
1. Form: Poa pratensis (u. nemoralis)	Ran. auricomus [nach Bubák, Tranzschel, Juel (u. eig. Vers.)]
2. Form: Poa nemoralis	Ran. bulbosus u. repens [nach Bubák]
3. Form: Poa trivialis (u. annua)	Ran. repens [Plowr., eig. Vers. (Nielsen, Bubák)]
4. Form: Poa trivialis (u. palustris)	Ficaria verna [Plowright (u. eig. Versuche)]
5. Form: Poa nemoralis	Ficaria verna [Schroeter]
6. Form: Poa pratensis	Ficaria verna [Bubák, Plowright (?)]

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß z. B. alle die unter Urom. Dactylidis aufgeführten Formen einander näher stehen (ich bezeichne mit „Form" in diesem Zusammenhang schlechtweg einen Pilz, der sich in irgend einer Eigenschaft vom anderen unterscheidet), als irgend eine Form der Sammelspecies Urom. Dactylidis einer beliebigen Form des Urom. Poae steht. Dies kommt nicht bloß in der Wahl des Teleutosporenwirtes zum Ausdruck, sondern auch in morphologischen Verschiedenheiten zwischen Urom. Dactylidis und Urom. Poae, auf die ich schon früher einmal hingewiesen habe (p. 712). Es ist hier der Ort, etwas näher auf diesen Punkt einzugehen.

Nach Schroeter besitzt die Uredoform des zum Aecidium Ficariae gehörenden Urom. Poae auf Poa nemoralis keine Paraphysen, dagegen enthalten die Uredo-Lager von Urom. Dactylidis Paraphysen. In der gleich nachher gemachten Bemerkung widerspricht er sich aber, indem er einen Urom. Dactylidis mit Paraphysen in der Uredoform erwähnt, der auf Poa nemoralis vorkomme. (Vergl. „Aecidium Ficariae", p. 773.) Wir bezeichnen natürlich einen derartigen „Urom. Dactylidis" als Urom. Poae.

Winter (nach Angabe von Plowright) betrachtet die Uredo-Lager auf Dactylis charakterisiert durch den Besitz von Paraphysen.

Plowright hinwiederum behauptet, er habe in keinem Falle in Uredo-Lagern auf Dactylis die geringsten Spuren von Paraphysen finden können.

Bubák gibt an, daß sowohl Uromyces Poae als auch Uromyces Dactylidis in den Teleutosporenlagern Paraphysen besitzen, was allen Autoren bisher entgangen sei.

Es ist ja, nach diesen widersprechenden Angaben zu schließen, wohl möglich, daß das Fehlen von Paraphysen in den Uredo-Lagern von Uromyces Poae, bezw. das Vorhandensein solcher in der Uredo von Uromyces Dactylidis, kein konstantes Merkmal ist, gibt doch Plowright in seiner oft zitierten Schrift bei der Besprechung seiner Infektionsversuche mit einem Aecidium auf Ran. acer an, daß die im Freien gesammelte Uredo zahlreiche, gut entwickelte Paraphysen enthielt, während sonderbarerweise die künstlich gezogenen Uredosporen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

niemals von Paraphysen begleitet waren (es handelt sich um Alopecurus pratensis und Avena elatior). Ich selbst habe nur je eine Form der beiden Typen Urom. Dactylidis und Urom. Poae auf das Vorhandensein oder Fehlen von Paraphysen in den Uredo-Lagern untersucht, nämlich die zum Aecidium Ranunculi-bulbosi gehörende biologische Rasse des Urom. Dactylidis (Reihe XXVIII) und Urom. Poae auf Poa trivialis, zu Aecidium Ficariae gehörig (Reihe VII). Die erstgenannte Form besaß Paraphysen, letzterer fehlten solche.

Dagegen habe ich drei biologische Rassen von Urom. Dactylidis [Versuchsreihen XXIX (zum Aecid. auf Ran. bulbosus), XXIII (zum Aecid. auf Ran. silvaticus) und XIV (zum Aecid. auf Ran. platanif.)] und eine Form von Urom. Poae [Reihe VII (z. Aecid. Ficariae)] auf die Beschaffenheit der Uredosporen hin geprüft und gefunden, daß die Formen des Urom. Dactylidis-Typus völlig übereinstimmen: Uredo-Lager braun, Sporenmembran hellbraun, mit 5—8 sehr deutlichen Keimporen; Inhalt gelbbraun.

Die Uredo von Urom. Poae zeichnet sich dagegen durch orangefarbenen Inhalt (Lager ebenfalls orangegelb), blaßgelbe, beinahe farblose Membran und 5(?) undeutliche Keimporen aus.

Wenn wir aus rein praktischen Gründen eine Abgrenzung der verschiedenen Formen machen wollen, so können wir diejenigen Pilze, die mindestens in einer Sporenform sich morphologisch unterscheiden lassen, als Arten bezeichnen, während die nur biologisch, d. h. in der Wahl der Nährpflanzen, differenten Formen als biologische Arten oder Rassen zu unterscheiden sind. Dementsprechend müssen Uromyces Poae und Uromyces Dactylidis als verschiedene Arten auseinandergehalten werden, die Einzelformen aber, aus denen sich diese Uromyces zusammensetzen, als biologische Rassen.

Die auf Ranunculus-Arten lebenden Uromyces bilden einen Beweis dafür, daß zwischen morphologischen und biologischen Arten scharfe Grenzen nicht gezogen werden können, daß vielmehr alle Uebergänge vorhanden sind.

Die im folgenden dafür namhaft gemachten Beispiele lassen sich in drei Hauptgruppen einordnen. Die erste Gruppe umfaßt solche Pilze, die sich morphologisch (namentlich in der Uredo-Form) und biologisch (in beiden Generationen) unterscheiden; in der zweiten Gruppe von Beispielen wird gezeigt, daß morphologisch differente Formen (die Unterschiede treten meist nur in der Teleutosporengeneration hervor) sich in der einen Sporenform (in unserem Fall in der Aecidiengeneration) biologisch gleich verhalten können; die dritte Gruppe von Beispielen endlich umfaßt solche Fälle, in denen sich die Pilze bloß biologisch unterscheiden lassen, sei es daß sie verschiedene Teleutosporen- und Aecidienwirte besitzen, oder aber, daß sie nur in der einen Generation ungleiche Nährpflanzen bewohnen.

a) Beispiele von morphologisch und biologisch (hier in beiden Generationen) differenten Pilzen.

(Die auf gleicher Linie stehenden Arten sind einander gegenübergestellt.)

1. Uromyces Platanifolii-Dactylidis	Urom. Poae f. sp. (zu einem Aecid. Ficariae)
2. Uromyces Lanuginosi-Dactylidis	Urom. Poae f. sp. (z. Aecid. auf R. auric.)
3. Uromyces Silvatici-Dactylidis	Urom. Poae f. sp. (z. Aecid. auf R. repens)

Solcher Beispiele gibt es eine ganze Anzahl; sie können nach Belieben mit einander kombiniert werden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Beispiele von morphologisch und biologisch (aber nur in der einen Sporenform) verschiedenen Arten.

(Die morphologischen und biologischen Differenzen betreffen die Teleutosporengeneration.)

1) Eine Form des Uromyces Dactylidis entwickelt die Aecidien auf Ran. bulbosus [Plowright und eigene Versuche]; Ran. bulbosus ist aber zugleich der Aecidienwirt mindestens zweier anderer Uromyces-Arten: eines Uromyces Festucae [Bubák] und eines Uromyces Poae mit Uredo- und Teleutosporen auf Poa nemoralis [Bubák].

2) Drei formae speciales des Urom. Poae erzeugen die Aecidiengeneration auf Ficaria verna [a) Plowright und eigene Versuche, b) Schroeter, c) Bubák]. Nach Tranzschel wächst auch die Aecidienform von Urom. Rumicis auf Ficaria.

Es ist interessant, zu sehen, daß Urom. Poae (als Sammelspecies) und Urom. Rumicis, die in der Teleutosporenform biologisch weit auseinanderstehen, sich darin auch morphologisch bedeutend schärfer unterscheiden, als z. B. die biologisch einander nahe verwandten Urom. Poae und Urom. Dactylidis, die sich morphologisch nur in der Uredoform unterscheiden lassen. Hier fallen also biologische und morphologische Differenzen zusammen, ein Hinweis, daß beiderlei Eigentümlichkeiten für die Artabgrenzung wichtig sind. [Wenn aber z. B. Fälle vorliegen, in denen morphologisch beinahe übereinstimmende Arten biologisch scharf getrennt sind, so kann man im Zweifel sein, ob morphologische oder biologische Charaktere einen größeren systematischen Wert besitzen.]

3) Ran. repens ist der Aecidienwirt von zwei morphologisch differenten Arten:

a) von zwei formae speciales des Urom. Poae, b) von Urom. Dactylidis.

Endlich sei noch darauf hingewiesen, daß Ran. repens und bulbosus auch Nährpflanzen der **Puccinia** Magnusiana repräsentieren.

c) Beispiele von bloß biologisch verschiedenen Formen.

Als Formen, die sich in beiden Generationen biologisch verschieden verhalten, stelle ich einander gegenüber:

1) Urom. Poae f. sp. auf Poa pratensis, nemoralis und Ran. auricomus [Bubák, Tranzschel, Juel, eigene Versuche].
   Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis, palustris und Ficaria verna [Plowright, eigene Versuche].
2) Urom. Poae f. sp. auf Poa nemoralis und Ficaria verna [Schroeter].
   Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis, annua und Ran. repens [Nielsen, Bubák].
3) Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis und Ran. repens [Plowright, eigener Versuch].
   Urom. Poae f. sp. auf Poa pratensis, nemoralis und Ran. auricomus [Bubák, Tranzschel, Juel, eigene Versuche].

Ein Blick auf die Tabelle auf p. 27 zeigt, daß zwischen den soeben genannten Formen und solchen, die nur noch in der einen Sporenform biologisch sich unterscheiden, Uebergänge vorhanden sind. Man ver-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gleiche in dieser Beziehung z. B. Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis, annua und Ran. repens [Nielsen, Bubák] mit Urom. Poae f. sp. auf Poa trivialis, palustris und Ficaria verna [Plowright, eigene Versuche], so fällt sogleich auf, daß beide Formen einander auf Poa trivialis berühren.

Endlich seien solche Ranunculus bewohnende Uromyces namhaft gemacht, die bloß noch in der einen Sporenform (und zwar in der Aecidiengeneration) biologisch voneinander abweichen:

1) Urom. Platanifolii-Dactylidis	Urom. Silvatici-Dactylidis.
2) Urom. Lanuginosi-Dactylidis	Urom. Dactylidis f. sp. auf R. repens (u. bulb.?).

Interessant ist ferner der Umstand, daß die biologischen Arten der auf Ranunculus wachsenden Uromyces in beiden Generationen meist auf eine, oder dann in der einen Generation nur auf wenige Nährpflanzen fixiert erscheinen. Nachstehend seien zunächst diejenigen biologischen Arten zusammengestellt, die in der Aecidienform mehr als eine Nährpflanze zu befallen vermögen:

a) Urom. Platanifolii-Dactylidis; b) Urom. Dactylidis f. sp. mit Aecidien auf Ran. repens und bulbosus; c) Urom. Poae f. sp. (zum Aecid. auf Ran. repens und bulbosus).

Formen, die mehr als einen Teleutosporenwirt besitzen:

a) Urom. Poae f. sp. (zu einem Aecidium Ficariae); b) Urom. Poae f. sp. (zum Aecid. auf Ran. auricomus); c) Urom. Poae f. sp. (zum Aecid. auf Ran. repens). Ich muß bemerken, daß die beiden unter c) genannten Pilze noch wenig untersucht sind; auch die Wirtswechselbeziehungen von b) (erste Gruppe) sind nicht abgeklärt.

Einen Gegensatz dazu bilden in dieser Beziehung einige von Klebahn (5) und O. Schneider (10) untersuchten Weidenmelampsoren; so vermag z. B. Melampsora Larici-Nigricantis O. Schneider mindestens 12 verschiedene Salices zu befallen. — Es ist freilich nicht ausgeschlossen, daß weitere Kulturversuche in einigen Fällen die Zahl der von einer biologischen Art bewohnten Wirtspflanzen vermehren, denn zu vielen der bisherigen Infektionsversuche wurde eine zu kleine Auswahl von Versuchspflanzen verwendet.

Es sei noch mit wenigen Worten die Frage nach der individuellen Empfänglichkeit der Wirtspflanzen einer und derselben Species für einen bestimmten Parasiten berührt. Klebahn (5) glaubt auf Grund seiner bei den Infektionsversuchen gemachten Erfahrungen eine ungleiche Empfänglichkeit der Individuen einer Species verneinen zu müssen. Man macht aber doch hin und wieder Beobachtungen, die einem die Frage aufdrängen, ob nicht vielleicht doch eine individuelle Disposition gegenüber parasitärer Infektion auch bei Pflanzen vorhanden sei. Als hierher gehörig habe ich unter „Aecidium auf Ran. platanifolius“ (p. 9) zwei Beobachtungen notiert. Eine dritte bezügliche Beobachtung machte ich in einem Versuche mit Aecidium Calthae, die hier auch angeführt werden soll. Ich zerstäubte am 19. Juni 1906 Aecidiosporen, vermischt mit sehr spärlicher Uredo, auf 2 Exemplare Caltha palustris. Am 3. Juli trug die eine Versuchspflanze auf 7 von 10 Blättern (die 3 jüngsten sind pilzfrei geblieben) reichlich Uredo, die andere blieb vollkommen gesund. Es muß bemerkt werden, daß die beiden im Versuch verwendeten Caltha-Stauden vom gleichen Standort kamen und daß sie in Bezug auf Zahl und Alter der Blätter kaum merklich differierten. Es ist mir ferner aufgefallen, daß zuweilen unter den

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährpflanzen derselben (oder verschiedener) Species der Infektionserfolg auf einigen Exemplaren früher auftrat, als auf anderen. Dies war z. B. der Fall in Versuchsreihe X. Im allgemeinen scheint die Infektion auch bei den Gräsern auf jungen Blättern leichter zu erfolgen als auf älteren.

Die Biologie der Ranunculus-Arten bewohnenden Uromyces bietet auch einige Anhaltspunkte zum Versuch einer Lösung von Fragen allgemeiner Natur und von besonderem theoretischem Interesse, z. B. der Frage über die Ursachen der Spezialisation. Eine allseitige Erörterung dieser schon oft diskutierten Frage, die insbesondere im oft zitierten Werk „Die wirtswechselnden Rostpilze" von H. Klebahn eine eingehende Betrachtung erfahren hat, liegt aber nicht in der Aufgabe dieser Arbeit, da sie viel zu weit ausholen und Beispiele herbeiziehen müßte, die mit der von uns besprochenen Pilzgruppe nichts zu tun haben. Ich beschränke mich daher auf die Erörterung derjenigen Punkte, die unmittelbar an die biologischen Verhältnisse der auf Ranunculus-Arten lebenden Uromyces sich anknüpfen lassen.

Wir haben gesehen, daß einige spezialisierte Formen der Sammelspecies Urom. Dactylidis und Urom. Poae in der einen Sporenform mehrere Nährpflanzen bewohnen, die Mehrzahl aber in beiden Generationen nur einen Wirt besitzt. Diese Tatsache läßt mehrere Möglichkeiten der Erklärung zu, die alle davon abhängen, wie man sich die Ursachen der Spezialisierung vorstellt.

Eriksson sagt darüber folgendes: „Dieser Trieb (zur Spezialisierung) wird durch die umgebenden Verhältnisse — die vegetative Unterlage und das Klima — unter denen der Parasit lebt, in eine bestimmte Richtung geleitet. Wo eine gewisse Nährpflanzenspecies reichlich vorkommt und wo zugleich die klimatischen Verhältnisse für das Gedeihen des Pilzes günstig sind, da erreicht dieser eine größere Vollkommenheit. Die Ueberlegenheit kommt nicht nur durch eine im ganzen höhere innewohnende Lebenskraft (Vitalität) zum Vorschein, sondern auch durch einen höheren Grad von systematischer Festigkeit — die Form wird von parallel entstandenen Schwesterformen gut getrennt, d. h. „scharf fixiert" — und durch eine überlegene Fähigkeit, auf solchen Grasarten, die früher davon unberührt waren, Nährboden zu finden und Verbreitung zu gewinnen."

Vergleichen wir unter diesem Gesichtspunkt die Ergebnisse meiner Kulturversuche, so können wir daraus eine Stütze für die Erikssonsche Hypothese kaum ableiten.

Ficaria ist in der Umgebung Berns keine seltene Pflanze, und Poa trivialis ist sehr gemein. Im ferneren scheinen die klimatischen Verhältnisse für die Entwickelung von Rostpilzen durchaus günstig zu sein, was aus der großen Zahl hier vorkommender Uredineen und der starken Verbreitung mancher ihrer Arten erhellt. Die zahlreichen Versuche mit Aecidium Ficariae haben dargetan, daß der zugehörige Urom. Poae streng auf Poa trivialis und palustris beschränkt ist und daß diese beiden Nährpflanzen gleich stark vom Pilze befallen werden. Andere bei uns verbreiteten Poa-Arten — es sind vor allem zu nennen Poa pratensis, nemoralis und annua — wiesen keine Spur eines Infektionserfolges auf. Nach Eriksson müßte sich aber die hohe Lebenskraft des unter solch günstigen Verhältnissen vegetierenden Pilzes darin äußern, daß dieser der Hauptwirtspflanze nahe verwandte Arten ebenfalls in abgestuften Stärkegraden befällt. — Auch für die anderen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ranunculus-Arten bewohnenden Rostpilze gilt das soeben für Aecidium Ficariae Gesagte.

Ran. acer, bulbosus und repens, obschon bei uns ebenso allgemein verbreitet, wie die zugehörigen Wirtspflanzen der zweiten Generation ihrer Pilze, werden im Freien selten und dann nur schwach infiziert gefunden. Freilich läßt ihnen die jeden Flecken Erde ausnützende Wiesenkultur wenig Raum zu ungestörter Entwickelung. — In allen Fällen scheint es sich um Pilze zu handeln, die auf eine oder zwei Hauptnährpflanzen streng spezialisiert sind.

Als einen Fall, der vielleicht zu Gunsten der Erikssonschen Lehre ausgelegt werden könnte, da neben der Hauptnährpflanze eine oder mehrere Nebennährpflanzen vom Pilze ergriffen werden, sei der folgende angeführt.

Eine am 10. Juli 1905 mit Uredo auf Poa pratensis, die aus einem Versuch mit einem Aecidium auf Ran. auricomus war gezogen worden, vorgenommene Infektion ergab auf Poa pratensis einen ziemlich starken, auf Poa nemoralis einen schwachen bis mittleren Erfolg. Um eine Fremdinfektion von Poa nemoralis kann es sich hier nicht handeln, weil als Versuchspflanzen ausschließlich Sämlinge verwendet wurden und weil die mikroskopische Untersuchung der Teleutosporen das Vorhandensein solcher vom Typus des Uromyces Poae nachwies. Ich habe das Aecidium auf Ran. auricomus in der Umgebung Berns noch nirgends gefunden und vermag nicht zu sagen, ob es anderswo mit seinem Wirt so verbreitet ist, daß ihm eine hohe Vitalität zukommen könnte [1]).

Einen besonderen Fall stellt Uromyces Platanifolii-Dactylidis dar, der in der Aecidienform Ran. platanifolius, aconitifolius, glacialis und alpestris zu befallen vermag. Von diesen 4 Aecidienwirten werden Ran. platanifolius und aconitifolius gleich stark infiziert; ob dies auch für Ran. glacialis zutrifft, kann aus dem einzigen mit dieser Species gemachten erfolgreichen Versuche nicht geschlossen werden.

Ran. alpestris dagegen scheint für die Entwickelung dieses Pilzes weniger günstige Eigenschaften zu besitzen, als die beiden erstgenannten Nährpflanzen, da es meist bei der Pyknidenbildung sein Bewenden hatte. Dies kann nicht einzig auf Rechnung der geringeren Widerstandsfähigkeit von Ran. alpestris gesetzt werden; denn auch in denjenigen Fällen, in denen die Blätter nicht kurz nach dem Erscheinen von Pykniden abstarben, kam es nur selten zur Bildung weniger Aecidien.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß in der Natur außer Ran. platanifolius und aconitifolius auch Ran. alpestris in Gemeinschaft mit Dactylis glomerata vorkommt; dafür aber, daß Ran. glacialis und Dactylis zusammen sich finden, besteht eine geringe Wahrscheinlichkeit. Ihre Verbreitungsgebiete können einander noch gerade berühren.

Wie haben wir uns nun den Uebertritt der Basidiosporen des Uromyces Platanifolii-Dactylidis, dessen Aecidium in der Natur bisher nur auf Ran. platanifolius und aconitifolius gefunden worden ist, auf Ran. alpestris und glacialis zu erklären? — Am einfachsten wohl damit, daß wir sagen: Ran. alpestris und glacialis sind plötzlich vom Parasiten ergriffen worden, weil die Eigenschaften

1) Das Aecidium stammte von Herrn D. Cruchet, Pfarrer in Montagny bei Yverdon.

Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

dieser Pflanzen (es ist in erster Linie an eine chemische Verwandtschaft ihrer Säfte mit denen von Ran. platanifolius und aconitifolius zu denken) zufällig solche waren, daß der Pilz sie zu befallen vermochte.

Es fragt sich, ob außer dieser Annahme einer Uebereinstimmung in der chemischen Zusammensetzung der flüssigen Einschlüsse der Epidermiszellen von Ran. platanifolius und aconitifolius einerseits und von Ran. alpestris und glacialis andererseits (vielleicht handelt es sich um Ausscheidungen der Protoplasten durch die Epidermisaußenwand und Cuticula hindurch, durch die dafür reizempfängliche Sporen zur Keimung veranlaßt werden) noch andere Gründe das Befallenwerden von Ran. alpestris und glacialis durch ein Aecidium auf Ran. platanifolius und aconitifolius zu erklären vermögen.

Es ist dabei etwa noch an die systematische Verwandtschaft zwischen den genannten Ranunculus-Arten zu denken. Sehen wir, welche Stellung das Pflanzensystem den 4 Uromyces-Wirten innerhalb der Gattung Ranunculus zuweist.

Nach der Prantlschen Einteilung der Ranunculus-Arten in „Engler-Prantl, Natürliche Pflanzenfamilien", wird Ran. alpestris mit Ran. auricomus, sceleratus u. a. in die Gruppe Epirotes Prantl der Sektion III: Marsypadenium Prantl gestellt. Ran. platanifolius (Ran. aconitifolius ist hier wohl inbegriffen, da dieser Name nicht genannt wird; auch in „Schinz und Keller, Flora der Schweiz" wird Ran. platanifolius als Subspecies von Ran. aconitifolius aufgefaßt) und Ran. glacialis werden dagegen einer anderen Sektion (der Sektion IV: Hypolepium Prantl) zugewiesen.

Die systematische Verwandtschaft, die der Ausdruck sein soll einer wirklichen „Blutsverwandtschaft", erklärt also wohl die Empfänglichkeit von Ran. glacialis für die Basidiosporen des Uromyces Platanifolii-Dactylidis, dagegen nicht diejenige von Ran. alpestris.

Es ließe sich noch die Frage anschließen, ob der Pilz von jeher die Fähigkeit besessen habe, diese verschiedenen Ranunculus-Arten zu befallen, oder ob er früher monophag gewesen sei. Da die Diskussion dieser Frage zu weit führen würde, soll hier nur darauf hingewiesen sein; ich bin geneigt, die erste dieser beiden Möglichkeiten als wahrscheinlicher hinzustellen.

Literatur.

1) Bubák, Fr., Infektionsversuche mit einigen Uredineen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
2) —, Vorläufige Mitteilung über Infektionsversuche mit Uredineen im Jahre 1904. (Annales Mycologici. T. II. 1904. No. 4.)
3) —, Infektionsversuche mit einigen Uredineen. III. Bericht (1904 u. 1905). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)
4) Juel, Mykologische Beiträge. VII. (Arkiv för Botanik. Bd. IV. No. 16.)
5) Klebahn, H., Die wirtswechselnden Rostpilze. Berlin 1904.
6) —, Kulturversuche mit Rostpilzen. XII. Bericht (1903 u. 1904). (Zeitschrift für Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 2.)
7) Krieg, W., Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien. [Vorläufige Mitteilung.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. 1905.)
8) —, Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien. [Vorläufige Mitteilung.] (Ibid. Bd. XVII. 1906.)
9) Plowright, Charles B., On the Life-History of certain British Heteroecismal Uredines.
10) Schneider, O., Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weiden-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

melampsoren. [Inaug.-Diss.] (Sonderabdruck aus: Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1906.)
11) Schroeter, J., Entwickelungsgeschichte einiger Rostpilze. (Sonderabdruck aus: Ferdinand Cohns Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. Bd. I. 1878. Heft 3.)
12) Semadeni, F. O., Neue heterözische Rostpilze. [Vorläufige Mitteilung.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)
13) Tranzschel, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. St. Petersburg 1905.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Chlorose der Reben.

[Arbeiten der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Von Dr. **Emil Molz.**

Mit 4 Tafeln und 8 Abbildungen im Text.

(Fortsetzung.)

Ad Versuch X. Bei den Vegetationsversuchen in Wasser nehmen wir zuerst eine Verfärbung der Triebspitzen nach Gelblichgrün wahr, erst später beginnt die Vergilbung der unteren Blätter, die dann von unten nach oben fortschreitet. Dieses letztere Vergilben trat zuerst bei jenen Stöcken auf, deren Boden am meisten Kalk enthielt. Wenn diese Abstufung auch nicht in allen Fällen deutlich zum Ausdruck kam, so zeigten doch hier, wie auch bei Versuch XI, XII, XIII und XIV, die Reben im Sandboden weitaus am längsten ein gesundes Aussehen, und die Vergilbungserscheinungen traten nur mit relativ geringer Intensität hervor. Damit ging Hand in Hand auch eine weniger weit vorgeschrittene Wurzelfäule. Zur näheren Charakterisierung der in diesen Kulturen zum Ausdruck gekommenen Gelbsucht muß erwähnt werden, daß sie nicht identisch ist mit jenem chlorotischen Phänomen, dessen Erscheinungsweise wir im Anfang dieser Arbeit geschildert haben. Der am meisten in die Augen fallende Unterschied besteht darin, daß hier die Vergilbung zuerst die unteren Blätter befällt und nach oben fortschreitet. Auch der Farbenton ist hier ein anderer, er neigt mehr dem Zitronengelb zu, während bei der früher geschilderten Chlorose mehr ein Gelbweiß bezeichnend ist. Das Vergilben der Blätter begann in unseren Versuchen entweder interkostal oder aber die Blattrippen wurden zuerst ergriffen, und das Gelb verbreitete sich von da über die Zwischenfelder. Beide Erscheinungsweisen waren zumeist an einem Trieb zu beobachten, doch überwog die letztere. Die Blattspreiten neigten sich nach unten und nahmen allmählich einen immer zunehmend spitzeren Winkel zur Stielachse an, die Blattränder bogen etwas nach unten um, ohne aber einzurollen oder zu verkräuseln. Dadurch wölbte sich die Blattoberseite etwas konvex vor. Später fielen die Blätter ab und zwar die unteren zuerst. Bei denjenigen, deren Vergilbung von den Blattrippen ausging, lösten sich die Laminae vom Stiel und fielen eher ab als dieser. Einige hatten vorher dürre Stellen an den Rändern erhalten, die jedoch nicht interkostal zunahmen, doch kam es vor, daß einige Blätter vollkommen abwelkten, ohne vorher das Vergilbungsstadium ganz oder auch nur zum Teil durchlaufen zu haben. Die ganze Erscheinung spricht für mangelhafte Ernährung durch das kranke Wurzelwerk. Auch das Fahlgrünwerden der Spitzenpartie der Versuchsstöcke ist allem Anschein nach als eine Wirkung ungünstiger Ernährungsbedingungen auf-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zufassen. Die Blätter rollen hier weder ein, noch zeigen sie abgestorbene Partieen. Um Verwechselungen vorzubeugen, wollen wir in der Folge für das eingangs dieser Arbeit geschilderte ikterische Phänomen den Namen Kalkchlorose einführen, denn ich und fast alle Beobachter dieser Chlorose haben, wie wir schon wissen, feststellen können, daß diese nur in mehr oder weniger stark kalkhaltigen Böden Entwickelung nimmt. Der Kalk steht offenbar, wenn nicht gerade in direkten, so doch in sehr nahen Beziehungen zu der physiologischen Bewirkung der Entstehung dieses Krankheitsbildes.

Ad Versuch XI und XII. Es wurde hier einesteils von dem Gedanken ausgegangen, durch genügende Zuführung der nötigsten Pflanzennährstoffe einer durch das Wasser herbeigeführten zu starken Verdünnung der Nährlösung vorzubeugen, zum anderen Teil galt es festzustellen, ob nicht etwa das beigegebene Nitrat durch Bildung von Stickstoffoxydul, das ja bekanntlich an Stelle des Sauerstoffs die Verbrennung unterhalten kann, einen fäulnishemmenden Einfluß auf die Wurzeln ausübe. A priori war eine derartige Wirkung nach den Beobachtungen von Traube[1]), daß die Würzelchen von Erbsenkeimlingen in lufthaltigem Wasser längere Zeit die Fähigkeit behielten, sich zu verlängern, während ihre Entwickelung in ausgekochtem Wasser sofort stillstand, nicht ausgeschlossen, zumal Müntz[2]) bei dem gegen die Reblaus in einigen Gegenden Frankreichs in Anwendung kommenden Submersionsverfahren bei Verwendung von Nitraten nach dieser Richtung günstigen Erfolg erzielte. In unseren Versuchen konnte jedoch eine augenfällig hervorgetretene Hemmung der Wurzelfäule oder des Vergilbungsprozesses durch Beigabe von $NaNO_3$ nicht festgestellt werden. Doch muß hierzu bemerkt werden, daß der spätere Beginn dieser Versuchsreihen eine gute Vergleichung mit den anderen hierher gehörigen Versuchen nicht ermöglichte. Und es war unterlassen worden, einen zeitlich gleichlaufenden Parallelversuch ohne Nährsalze aufzustellen. Aus diesem Grunde wäre es falsch, aus dem Ergebnis weitere Schlüsse zu ziehen.

Ad Versuch XIII und XIV. In diesen Versuchen wurde der Nachweis geführt, daß bei dem hier in Frage kommenden Vergilbungsprozeß nicht etwa Eisenmangel mit im Spiele ist.

Nachtrag. In einer besonderen Versuchsserie war beabsichtigt, den Einfluß höherer Temperatur (+ 35° C) auf das Entstehen der Wurzelfäule und der Gelbsucht zu prüfen. Die großen Schwankungen der Außentemperatur an den verschiedenen Tagen und der starke Wärmewechsel zwischen Tag und Nacht ließ bei der verwendeten Einrichtung die Erzielung einer einigermaßen konstanten Temperatur nicht zu. Es wurde deshalb dieser Versuch nach einer Dauer von 6 Tagen abgebrochen. Inzwischen waren schon, besonders bei den in kalkreichen Boden stockenden Stecklingen einige Blätter vergilbt und einige vertrocknet. Letzteres ist hier wohl eine Folgeerscheinung der Schwierigkeit der Wasseraufnahme durch die Pflanze, da die Temperatur des Bodenwassers häufig diejenige der Außentemperatur überstieg.

Die hier verwandten Versuchsobjekte kamen nach Ausschaltung des Versuches des weiteren unter normale Wachstumsbedingungen. Nachdem sie noch einige Blätter abgeworfen hatten, verlängerten sie ihren Trieb, aber dieser erzeugte nun in denjenigen Töpfen, die einen Kalkzusatz erhalten

1) Monatsbl. d. Kgl. Preuß. Akademie d. Wissensch. zu Berlin. 1860. p. 89.

2) Müntz, A., La végétation des vignes traités par la submersion. (Compt. rend. des séances de l'acad. d. sc. T. CXIX. p. 116ff.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hatten, chlorotische Blätter. Besonders ausgeprägt war diese Chlorose in den Töpfen mit Bodenart VII und X, während sie in Bodenart III nur sehr schwach hervortrat und bei I vollkommen ausblieb. Es war das Bild der typischen Kalkchlorose. Eine Untersuchung der Wurzeln aus Bodenart VII zeigte, daß sie größtenteils abgefaulte Spitzen besaßen, doch waren junge Würzelchen neu gebildet worden. Die Stecklinge in Bodenart X ließen später an dem fortwachsenden Trieb wieder grüne Blätter entstehen, ohne daß die chlorosierten vorher ergrünten. Diese blieben auch weiterhin chlorotisch. Die schon stark degenerierten Chloroplasten waren offenbar hier nicht mehr regenerationsfähig.

Ein weiterer Fall der Bildung der Kalkchlorose sei angeführt. In einem an meinen Versuchsraum anschließenden Gewächshaus hatte ich noch eine große Anzahl Töpfe mit Rebstecklingen in verschieden präparierten Bodenarten aufgestellt. Sie wurden in der Bewässerung weniger sorgfältig behandelt, und so kam es, daß sie manchmal, namentlich bei heißer Witterung, größere Wassermangelperioden zu bestehen hatten. In dem relativ kühlen Nachsommer erhielt sich der Boden in den Töpfen länger feucht, und die Stecklinge entwickelten jetzt teilweise nochmals einen kurzen Trieb. Dieser war auffallenderweise in den kalkreichen Erden größtenteils chlorotisch; es war auch hier die typische Kalkchlorose. Die Wurzeln verschiedener solcher Stecklinge wurden genau untersucht. Die jungen weißen Spitzen waren vollkommen gesund, aber die ganz feinen Saugwürzelchen zeigten sich sämtlich welk und faulig. Diesen Befund konnte man auch in den Töpfen mit Sandboden (Bodenart I) konstatieren, doch war hier die Chlorose nicht aufgetreten. Erst in den Töpfen von Bodenart IV (12 Proz. $CaCO_3$) aufwärts trat dieselbe in Erscheinung, ohne daß man aber einen Zusammenhang zwischen dem Intensitätsgrad der Krankheit und den steigenden Kalkprozenten hätte finden können.

Die Wurzelfäule der Reben und ihre ätiologische Bedeutung für die Entstehung der Chlorose.

Das Zusammenvorkommen von Wurzelfäule und chlorotischen Erscheinungen an den oberirdischen Organteilen der Rebe trat in allen meinen Versuchen mit klarer Deutlichkeit hervor und weist auf einen ursächlichen Zusammenhang beider Phänomene hin. Ehe wir an eine Klärung der hier obwaltenden Beziehungen herantreten, gilt es vorerst des näheren die Bedingungen kennen zu lernen, die direkt oder indirekt die Fäulnis der Wurzeln bewirken.

Wir haben schon gesehen, daß ungenügende Zufuhr von Sauerstoff allein für die Wurzelfäule der Reben nicht verantwortlich gemacht werden kann, zumal in der freien Natur die Fälle eines lange Zeit anhaltenden Sauerstoffmangels der Wurzeln ohne gleichzeitige Anwesenheit von mehr oder weniger überschüssigem Wasser ziemlich selten sind. Weit wichtiger ist für die Erzeugung der Wurzelfäule das Wasser, und zwar das unbewegte, das stagnierende. In dem stehenden Wasser, das von der Bodensohle aufsteigt und das die Bodenkapillare vollkommen ausfüllt, tritt für die Wurzeln meist sehr bald Sauerstoffmangel ein. An Stelle des normalen Atmungsprozesses tritt dann der anaërobe Stoffwechsel, der noch einige Zeit die Zellen lebensfähig erhält. Doch die Anhäufung der Atmungsprodukte erzeugt allmählich eine derartig tiefe Störung in den vitalen Funktionen des Plasmas, daß bald Absterbungserscheinungen hervortreten. Diese beobachtet man meist zuerst an den

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wurzelspitzen. Das Gewebe verändert dort zunächst seine Beschaffenheit, es wird weich und durchscheinend, später bräunt es sich und geht unter der Mitwirkung von Bakterien vollkommen in Fäulnis über, die schließlich die ganze Wurzel ergreift.

Den Bakterien kommt bei der Fäulnis der Wurzeln eine sehr gewichtige Rolle zu, und wir dürfen annehmen, daß ihre Tätigkeit häufig schon vor dem gänzlichen Absterben der Zellen einsetzt, sobald innerhalb jener gewisse Veränderungen eingetreten sind, die das Eindringen dieser Lebewesen gestattet und ihre Tätigkeit wirkungsvoll werden läßt.

Den Sauerstoffmangel bei Gegenwart von Feuchtigkeit dürfen wir aber keineswegs als eine conditio sine qua non der Wurzelfäule ansehen, denn die Versuche von Wehmer[1]) mit Kartoffelknollen, auf die wir wegen ihrer großen Wichtigkeit für unsere Zwecke kurz eingehen müssen, belehren uns zur Genüge, daß die Bedingungen zur Wurzelfäule auch bei Gegenwart von Sauerstoff gegeben sein können; und ich habe kein Bedenken, die an Kartoffelknollen gewonnenen Resultate auch auf andere unterirdische, pflanzliche Organteile in Anwendung zu bringen.

Die Tatsache des Absterbens von unter Wasser liegenden Kartoffeln wird auch von Wehmer[2]) vorzugsweise als ein Ersticken der atmenden Knolle gekennzeichnet. Der Angriff der Spaltpilze soll nach diesem Forscher erst erfolgen, nachdem bereits Absterbeprozesse voraufgegangen sind. Diese werden durch höhere Temperatur (+ 32°) sehr stark beschleunigt. Je mehr sich die Wasserbedeckung verringert und die Temperatur sinkt, um so mehr verringern sich in gleichem Grade die Fäulniserscheinungen. Liegen die Knollen z. B. nur zu $^1/_4$ im Wasser und zu $^3/_4$ in freier Luft, so bleiben sie bei mittlerer Temperatur zumeist gesund. Anders ist es aber, wenn der vom Wasser nicht bedeckte Knollenteil sich in einem geschlossenen Raum befindet. Solche Knollen faulen ohne Ausnahme. Der abgeschlossene Raum wirkt hier wie der völlige Luftabschluß, obwohl hier Sauerstoff hinreichend vorhanden ist. Eine von Wasser berührte Wunde einer Kartoffelknolle führt keineswegs, trotz der Anwesenheit lebhafter Bakterienvegetation, zur Fäulnis derselben, wenn die betreffende Knolle teilweise in frei zirkulierende Luft ragt; die Wunde wird aber im abgeschlossenen Raum für die Knolle stets verderblich.

In schweren Bodenarten werden sich die Wurzeln in feuchten Jahresperioden nicht nur häufig vollkommen im Wasser befinden, sondern es werden vor allem sehr oft die Verhältnisse einer feuchten abgeschlossenen Kammer bei zahlreichen Wurzeln verwirklicht sein. Um hier klar zu sehen, habe ich die Wehmerschen Versuche mit Kartoffeln dahin variiert, daß ich statt der Glasgefäße extreme Bodenarten zur Schaffung verschiedenartiger Wachstumsbedingungen des freien Feldes unter Berücksichtigung von besonders für die Rebwurzeln in Betracht kommenden Verhältnissen verwandte. Diese Versuche sind nachstehend angeführt:

(Siehe Versuch I p. 792.)

Diese Versuchsresultate sind leicht mit den Feststellungen Wehmers in Einklang zu bringen und lassen deutlich erkennen, welch hohe Be-

1) Wehmer, C., Untersuchungen über die Kartoffelkrankheiten, III. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 540 ff.)

2) l. c. p. 570.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

I. Versuch.
Beginn am 14. Februar 1906.

Lfde. No.	Versuchsbedingungen	Resultat am 8. April 1906
1.	Zwei vollkommen gesunde und unverletzte Kartoffelknollen wurden jede für sich in je einem besonderen Topf (10 cm hoch, 12 cm breit) in festgekneteten Letten so eingebettet, daß der obere Rand der Knollen noch 3 cm von der Lettenschicht überdeckt war. Für ständiges Feuchthalten der Oberfläche der Erdschichten wurde in allen Versuchen gesorgt. Sämtliche Töpfe dieser Versuchsreihe wurden in 3 cm hohe Untersätze eingestellt, die ständig mit Wasser gefüllt gehalten wurden, das durch das Loch im Boden des Topfes in das Innere desselben eindringen konnte. Außentemperatur 18—22 ° C.	Beide Knollen faul
2.	Zwei Knollen wurden behandelt wie bei 1, doch erfolgte hier die Einbettung in den Letten nur so tief, daß das obere Ende der Knollen noch 1,5 cm aus der Lettenschicht herausragte und hier von Kohlenschlacken (Haselnußgröße) eingehüllt war.	Beide Knollen gesund und getrieben
3.	Zwei Knollen wurden behandelt wie bei 2, doch war die deckende Schlackenschicht hier ersetzt durch ein Gemenge von Letten und Kohlenschlacken (1 : 1).	Beide Knollen gesund und getrieben
4.	Zwei Knollen wurden in je einem Topf mit Sand so eingebettet, daß die Sandschicht den oberen Rand der Knollen noch 3 cm überdeckte.	Beide Knollen gesund und getrieben
5.	Zwei Knollen wurden in je einem Topf in gekneteten Letten derart eingebettet, daß das untere Ende der Knolle sich etwa 3 cm im Letten befand, ebenso ihr oberes Ende; zwischen beiden Lettenschichten befand sich eine Lage kleiner Kohlenschlacken (0,5—2 cm Durchmesser); der obere Rand der Knolle war noch 3 cm unterhalb der Oberfläche der Lettenschicht.	Beide Knollen faul
6.	Zwei Knollen wurden behandelt wie bei 5, doch wurde hier die Schlackenschicht durch je 4 Glasröhren von 0,5 cm lichtem Durchmesser mit der Außenluft in direkte Verbindung gesetzt.	Beide Knollen gesund und getrieben
7.	Eine ganze Knolle und beide Hälften einer zerschnittenen Knolle wurden in einem größeren Blumentopf (21 cm hoch, 24 cm breit) in Letten eingebettet. Auf den Boden kamen auf das Abzugsloch einige Kohlenschlacken, die Seiten des Topfes wurden mit einer 2 cm dicken Schicht von geknetetem Letten ausgekleidet. Das Innere des so ausgestatteten Topfes wurde dann mit Letten in Krümelstruktur gefüllt und hierein in einer Tiefe von 8 cm von der Oberfläche die Knollen und Knollenstücke eingelegt. Die Oberfläche des Lettens wurde durch Verstreichen unter Anwendung von Wasser zu einer schwer durchlässigen Deckschicht geformt, wie ähnliche Verhältnisse auch in der Natur bei solchen Bodenarten durch Schlagregen erzeugt werden. Der Topf kam dann in einen Untersatz, der 5 cm hoch mit Wasser gefüllt gehalten wurde.	Alles faul

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lfde. No.	Versuchsbedingungen	Resultat am 8. April 1906
8.	Eine ganze Knolle und beide Hälften einer zerschnittenen Knolle wurden in einem größeren Blumentopf in Letten in Krümelstruktur 8 cm tief eingebettet. Die Oberfläche der Lettenschicht wurde einige Male 3 cm tief aufgelockert. Der Topf kam in einen Untersatz, der gleichfalls 5 cm hoch mit Wasser gefüllt gehalten wurde.	Alles gesund und getrieben

deutung einer unbehinderten Luftzirkulation im Boden, namentlich aber einer stets offen gehaltenen Bodenoberfläche zukommt. Dies wurde auch durch den nachfolgenden, mit Reben angestellten Versuch bestätigt.

II. Versuch.

Beginn am 10. August 1906.

Lfde. No.	Versuchsbedingungen	Resultat am 25. September 1906
1.	Vier Töpfe mit je 2 Rebenstecklingen und der früher gekennzeichneten Bodenart I, IV, VII und XII wurden außen mit einem Oelfarbenanstrich versehen und oben die Topferde 4 cm hoch mit feuchtem gekneteten Letten fest überdeckt. Zum Schutz gegen das Austrocknen und Springen des Lettens wurde derselbe mit einer 1,5 cm hohen Schicht von feuchtem Torfmull überstreut. Die Töpfe kamen 3 cm hoch mit ihrem Fuße in Wasser, das Loch im Boden blieb offen.	Die Wurzeln waren in sämtlichen Töpfen total faul, in der oberen Lettenschicht hatten sich aber einige neue Wurzeln gebildet; der in der Erde stehende Stecklingsteil war wassersüchtig. Blätter grüngelb, die unteren Blätter, wie auch die Geizblättchen durchaus gelb; nur in Bodenart I war bei beiden Rebenstecklingen das Laub noch ziemlich grünfarbig.
2.	Vier Töpfe, beschickt wie bei 1, wurden ohne Oelfarbenanstrich und ohne Lettenüberdeckung in 3 cm hohes Wasser eingestellt.	Die größeren Wurzeln waren noch gesund, die Spitzen der unteren Wurzeln zum Teil gebräunt und faulig, ebenso war ein großer Teil der feinsten Faserwurzeln abgestorben. Der in der Erde befindliche Stecklingsteil, sowie einige stärkere Wurzeln waren wassersüchtig. Dem oberen Teil des Stecklings entsprangen zahlreiche neugebildete Wurzeln. Das Aussehen der Blätter war hier weit gesünder als bei 1.

Die große Uebereinstimmung in der Wirkung der fäulnisfördernden Faktoren in beiden Versuchsreihen ist unverkennbar und rechtfertigt die weitere Heranziehung der Kartoffelknollen zu vergleichenden Versuchen.

In unseren früheren Experimenten, in denen das Zusammenwirken von Wasser und Kalk auf das Wurzelwerk, wie auch den ganzen Pflanzenorganismus geprüft wurde, trat allenthalben in den kalkhaltigeren Böden eine umfangreichere Wurzelfäulnis ein. Dieses Resultat finden wir auch in den nachstehenden Versuchen wieder (siehe Versuch III u. IV p. 794). Dieselben wurden mit Kartoffelknollen angestellt. Es sollte da-

Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

bei der Einfluß des kalkhaltigen und des alkalischen Wassers auf die Schnelligkeit des Fäulnisprozesses festgestellt werden. Um hierbei für das Endergebnis vergleichbare Zahlen zu erhalten, wurde zunächst das Gewicht der Knollen bei Beginn des Versuches ermittelt. Nach dessen Abschluß wurden die Kartoffeln in je 8 Stücke geschnitten und auf einem Sieb mit 1 mm Maschenweite 5 Minuten lang unter der Wasserleitung bei voll geöffnetem Krahnen ausgewaschen. Die auf dem Sieb verbliebenen Rückstände ließ man 10 Minuten lang abrinnen. Darauf wurden sie gewogen. Durch Subtraktion dieses Gewichtes vom Ausgangsgewicht erhält man die Größe der Faulmasse, die dann in Prozenten vergleichlich verwandt werden kann.

III. Versuch.
Beginn am 16. März 1906.

Lfd. No.	Versuchsbedingungen	Gewicht d. Knollen bei Beginn des Versuches	Gewicht des Siebrückstand. am 2. April 1906	Gewicht der abgeschlämmten Faulmasse	Gewicht der abgeschlämmten Faulmasse in % des Ausgangsgewichts d. Knollen
1	8 Knollen in 1 l dest. Wasser.	516,02 g	261,85 g	254,17 g	49,2
2	8 Knollen in 1 l dest. Wasser, dem 10 Proz. Schlämmkreide zugesetzt war.	516,90 „	249,00 „	267,90 „	51,8
3	8 Knollen in 1 l dest. Wasser, dem 10 Proz. Schlämmkreide zugesetzt war, und durch das dreimal je $^1/_4$ Stunde lang Kohlensäure hindurchgeleitet wurde.	498,49 „	238,55 „	260,94 „	52,3
4	8 Knollen in 1 l dest. Wasser, das durch einen geringen Zusatz von CaO schwach alkalisch gemacht war.	514,91 „	200,50 „	314,51 „	61,1
5	8 Knollen in 1 l dest. Wasser, das durch einige Tropfen Ammoniak schwach alkalisch gewar.	515,95 „	222,40 „	293,55 „	56,9

IV. Versuch.
Beginn am 11. Mai 1906.

Lfd. No.	Versuchsbedingungen	Gewicht d. Knollen bei Beginn des Versuchs	Gewicht des Siebrückstand. am 1. Juni 1906	Gewicht der abgeschlämmten Faulmasse	Gewicht der abgeschlämmten Faulmasse in % des Ausgangsgewichts d. Knollen
1	12 Knollen wurden in einen kalkhaltigen Lettenbrei (41,36 Proz. $CaCO_3$) eingebettet.	534,90 g	115,08 g	419,82 g	78,5
2	12 Knollen wurden in einen kalkarmen Sand (0,27 Proz. $CaCO_3$) eingebettet, der mit Wasser übergossen wurde.	535,05 „	208,56 „	326,49 „	61,0

Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Der nun folgende Versuch wurde mit gut bewurzelten, vorher in Sandboden gewachsenen Rebenstecklingen ausgeführt, die einen Trieb von 30—40 cm mit gesunder Belaubung gebildet hatten. Diese Stecklinge wurden sorgfältig ausgetopft und unter der Wasserleitung alle anhaftenden Erdteilchen abgeschlämmt.

V. Versuch.
Beginn am 3. Sept. 1906.

Lfd. No.	Versuchsbedingungen	Resultat am 18. Sept. 1906
1	Zwei bewurzelte Rebenstecklinge wurden in ein Gefäß eingestellt, das bis zur Ueberdeckung der obersten Wurzeln mit destilliertem Wasser angefüllt wurde.	Wurzeln gesund; Blätter bis auf eins, das gelb ist, frisch grün.
2	Zwei bewurzelte Rebenstecklinge wurden behandelt wie bei No. 1, dem Wasser waren 10 Proz. Schlämmkreide ($CaCO_3$) zugesetzt worden; am 5., 7. und 10. Sept. wurde durch das Wasser je 20 Minuten lang Kohlensäure durchgeleitet.	Wurzeln an den Spitzen gebräunt, Faserwürzelchen zum Teil faulig; Blätter sämtlich bis auf die 3 bezw. 4 obersten, die gelblichgrün sind, welk und an den Trieben gedörrt. Die Verwelkungserscheinungen begannen am 11. Sept.
3	Zwei bewurzelte Rebenstecklinge wurden behandelt wie bei No. 1, dem Wasser waren 3 Prom. Ammoniak zugesetzt worden.	Wurzelspitzen gebräunt und teilweise faul; Blätter sämtlich bis auf die 2 bezw. 3 obersten, die fahlgrün sind, hell quittengelb.

Dieser Versuch wurde am 18. Okt. 1906 wiederholt.

VI. Versuch.

Lfd. No.	Versuchsbedingungen	Resultat am 8. Okt. 1906
1	Wie bei Versuch V No. 1.	Wurzeln gesund; Blätter grün; nur zeigt bei dem einen Steckling das unterste, bei dem anderen das zweitunterste Blatt einige mattgelbe Flecken.
2	Zwei bewurzelte Rebenstecklinge wurden in ein Gefäß eingestellt, und die Wurzeln mit dest. Wasser übergossen, dem 10 Proz. Schlämmkreide zugesetzt war.	Wurzeln zum Teil an den Spitzen gebräunt, einige Faserwürzelchen faulig; Blätter grünlichgelb. Die Gelbfärbung beginnt an den Nerven und schreitet von da interkostal weiter.
3	Wie bei Versuch V, No. 2. Die Durchleitung der Kohlensäure erfolgte hier 4mal in Zwischenräumen von 2 Tagen.	Wurzeln größtenteils noch gesund, Faserwürzelchen zum Teil faulig; Blätter fahlgrün und welk, haften noch an den Trieben.
4	Wie bei Versuch V, No. 3.	Wurzelspitzen faulig, ebenso die Faserwurzeln. Blätter abgefallen, nachdem sie vorher gelb geworden waren. Die Laminae lösen sich leicht vom Stiel, das Mesophyll zeigt vorzugsweise in der Nähe der Nerven rostfarbene Flecken.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ergebnisse der vorstehenden Versuche können wir unter Berücksichtigung früherer Versuchsresultate in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Stauende Nässe im Untergrund begünstigt um so mehr die Fäulnisprozesse lebender Wurzeln, je dichter der Boden ist, und je mehr das Eindringen der Außenluft und deren Zirkulation in den Bodenzwischenräumen gehemmt ist.

2) Die Anwesenheit von Kalk, besonders aber alkalische Reaktion des Mediums fördern bei anhaltender Nässe wesentlich die Fäulnisprozesse lebender Wurzeln.

Ob diese letztere Wirkung eine primäre, den Gewebezerfall einleitende, oder nur eine sekundäre, die Bakterientätigkeit fördernde ist, bedarf noch weiterer Aufhellung.

Das mangelhafte Eindringen der atmosphärischen Luft in den Boden wirkt direkt und indirekt ungünstig auf das Wurzelwerk, einmal dadurch, daß die Bodenluft und das Bodenwasser allmählich an Sauerstoff verarmen, wodurch die Atmungstätigkeit der unterirdischen Pflanzenteile gehemmt wird, dann aber insofern, als durch diejenigen Faktoren, die den Boden gegen die Außenluft abschließen, zumal bei Nässe des Bodens, die Bedingungen zur Wurzelfäulnis geschaffen werden (feuchte, abgeschlossene Kammer).

Von unseren Wasserkulturen ist uns bekannt, daß in sauerstoffreichem Wasser die Wurzeln viel weniger zur Fäulnis neigen als in sauerstoffarmen. Brizi[1]) stellte gelegentlich der Erforschung der Ursachen der Brusonekrankheit der Reispflanzen fest, daß in Nährlösungen, die nur ganz geringe Luftmengen enthalten, die Bräunung der Wurzelorgane bei 30—33° C sehr rasch erfolgt, während in lufthaltiger Flüssigkeit diese Temperaturgrade ohne Schaden ertragen wurden. Führte man einer sauerstoffarmen Nährlösung, in der die Pflanzen bereits ein krankhaftes Aussehen angenommen hatten, mittels eines Aspirators Luft zu, so bildeten dieselben bald neue Wurzeln und erholten sich wieder.

Das Eindringen der Außenluft in den Boden ist vorzugsweise abhängig von der Lockerung des Bodens, besonders an der Oberfläche, ferner von der Größe der feinsten Bodenpartikelchen und der Wassersättigung. Durch eine Lockerung des Bodens wird dessen Volumen vergrößert und so auch die Weite der Hohlräume. Renk[2]) fand bei Vergleichung der Permeabilitätsverhältnisse für Luft von Böden verschiedener Korngröße a) in gelockertem, b) in festgestampftem Zustande folgende Zahlen:

		Gewicht der Probe in g	Porenvolumen in Proz.	Druck in mm	Durchgegangen Luft in l
Mittelkies	a	1538	41,7	20	25,21
„	b	1694	35,8	20	15,62
Feinkies	a	1529	42,0	50	24,97
„	b	1664	36,9	50	17,56
Grobsand	a	1490	43,5	50	5,72
„	b	1615	38,0	50	2,95
Mittelsand	a	1324	49,7	50	1,10
„	b	1513	42,6	50	0,27

1) Brizi, M., Ricerche sulla malattia del riso detta „brusone". (Zit. nach Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVI. 1906. p. 155.)

2) Renk, Fr., Ueber die Permeabilität des Bodens für Luft. (Zeitschr. f. Biologie. Bd. XV. 1879. p. 231.)

Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die großen Differenzen in der Permeabilität dieser Böden ist sofort in die Augen fallend, doch sind diese der Abnahme oder Zunahme des Porenvolumens nicht proportional. Bei den feineren Korngrößen ist die Luftdurchlässigkeit infolge von Auflockerung des Bodens eine viel bedeutendere als bei den grobkörnigen Bodenarten.

Von Wollny[1]) wurde festgestellt, „daß die Permeabilität solcher Bodenarten, in welchen die an der Zusammensetzung partizipierenden Bodenelemente bezüglich ihrer Größe wesentlich voneinander abweichen, hauptsächlich von dem feinkörnigsten Material abhängig ist.“ So wird die große Permeabilität des Sandes schon durch Zuführung geringer Mengen von Lehm sehr stark reduziert. Weiter wurde von diesem Forscher ermittelt, „daß für die Permeabilität des Bodens von bestimmter Mächtigkeit fast ausschließlich jene Schicht maßgebend ist, welche die feinsten Bodenelemente enthält, selbst dann, wenn diese nur eine geringe Höhe besitzt.“

In Böden von größerer Wasserkapazität ist der Wassergehalt in erster Linie für die Permeabilität entscheidend. Im gesättigten Zustande sind diese Böden für Luft impermeabel[2]). Eine kleine Zusammenstellung von Renk[3]) gibt uns über diesen Punkt klaren Aufschluß:

Mit Wasser erfüllte Poren	Verlust an Permeabilität
6,6 Proz.	5,8 Proz.
12,6 „	11,8 „
7,8 „	6,1 „
16,9 „	10,6 „
23,4 „	18,0 „
31,2 „	26,6 „
47,0 „	80,7 „
68,1 „	100,0 „
36,4 „	72,6 „
46,5 „	100,0 „
65,1 „	100,0 „
77,4 „	100,0 „

Mit der Permeabilität für Luft hängt die Schnelligkeit des Luftausgleiches zwischen Bodenluft und Atmosphäre, sowie der Luftströmungen innerhalb des Bodens aufs engste zusammen. „Wie langsam teilweise der Ausgleich der Bodenluft erfolgt, zeigen die Erfahrungen, welche bei der Vertilgung der Reblaus gewonnen sind. Schwefelkohlenstoff in ca. 60—80 cm tiefe Bohrlöcher gegossen, ist bei tonigem Boden zum Teil nach 6—8 Monaten noch in solchen Mengen vorhanden, daß man ihn anzünden kann“[4]).

Eine im Boden von Wasser eingehüllte Wurzel wird in Befriedigung ihres Atmungsbedürfnisses zunächst die unmittelbar angrenzenden Wasserteilchen ihres Sauerstoffes berauben. Es tritt infolgedessen in nächster Nähe der Wurzel sehr bald Sauerstoffmangel ein, der jedoch in lockeren Böden durch die Diffusionsströmungen des Wassers bald wieder beseitigt sein wird. Neue Wasserteilchen treten an Stelle der alten und führen den Wurzeln neuen Sauerstoff zu. Der Tod infolge Sauerstoffmangels

1) Wollny, E., Untersuchungen über die Permeabilität des Bodens für Luft. (Forschungen. Bd. XVI. 1893. p. 209.)
2) Vergl. Wollny, l. c. p. 218.
3) Renk, l. c. p. 236.
4) Aus Ramann, Forstliche Bodenkunde und Standortslehre. 1893. p. 110.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird hier nicht so bald eintreten. Ganz anders ist dies aber in schweren Böden. Wie der nachstehende, von mir angestellte Versuch zeigt, ist hier die Diffusion des Wassers nur eine äußerst geringe und genügt keineswegs, die in Wasser gehüllten Wurzeln vor dem Erstickungstot zu retten.

VII. Versuch. Beginn am 25. Juli 1906. Zwei Glascylinder von 4,5 cm Durchmesser und 11 cm Höhe wurden an ihrem unteren Ende mit Gaze zugebunden. In den einen Cylinder wurde Letten fest eingekretet und zwar 5 cm hoch. Der Letten war in mäßig feuchtem Zustande. In den anderen Cylinder kam Rheinsand in gleicher Höhe. Die Schlämmanalyse der benutzten Erden ergab folgende Zahlen:

	> 3 mm Proz.	Von 2—3 mm Proz.	Von 1—2 mm Proz.	Von 0,42—1 mm Proz.	Von 0,19—0,42 mm Proz.	Von 0,1—0,19 mm Proz.	< 0,1 mm Proz.	Abschlämmbar
Letten	0,05	0,04	0,11	1,45	5,40	10,46	10,67	71,82
Rheinsand	6,85	5,70	23,25	50,31	13,12	0,35	0,24	0,18

Der mit dem Letten beschickte Cylinder wurde zunächst mit seinem unteren Ende 24 Stunden 2 cm hoch in Wasser gestellt, damit sich der Boden kapillar vollkommen sättigen konnte. Dann wurde der Letten 4 cm hoch mit Wasser übergossen, und der Cylinder in ein Becherglas eingestellt, das bis zur Höhe des Wassers im Cylinder mit stark verdünnter Kalilauge (1 : 20) gefüllt wurde. Anders mußte bei dem mit Sand beschickten Cylinder vorgegangen werden. Hier wurde zunächst ein Becherglas mit der verdünnten Kalilauge so weit gefüllt, daß beim Einstellen des Cylinders ein Gleichstand der äußeren Flüssigkeit mit dem Wasser des Cylinders zu erwarten war. Durch vorheriges Ausprobieren mit einem Gefäß gleicher Wasserverdrängung wurde das dazu nötige Quantum Kalilauge genau festgestellt. Dann wurde der Cylinder mit dem Sand, indem er direkt über die Flüssigkeit des Bechers gehalten wurde, so weit mit Wasser gefüllt, daß dieses 4 cm über der Sandoberfläche stand. In dem Momente, wo das Wasser den Sand nahezu bis zum Boden des Cylinders durchdrungen hatte, wurde dieser in die Kalilauge eingestellt. Das war hier, wie auch bei dem Lettencylinder am 25. Juli, morgens 8 Uhr 30 Minuten. Am 8. August, also 14 Tagen nach Beginn des Versuches, brachte die über dem Rand stehende Flüssigkeit bei eingetauchtem Lackmuspapier eine schwache Blaufärbung hervor, und erst am 10. Oktober, also nach 77 Tagen, war im Wasser des Lettencylinders durch eine schwache Blaufärbung eines etwa 1 Minute lang eingetauchten Lackmuspapieres die Kalilauge nachweisbar.

Bei solch schweren Böden wird bei stauender Nässe, wie bereits erwähnt, im Bereiche der Wurzeln bald Sauerstoffmangel eintreten, der vorerst das Wachstum dieser Organe in Stillstand bringt. Die Lebensfunktionen der Wurzel spielen jedoch noch eine Zeitlang weiter. Jede Wurzel scheidet aber bestimmte Stoffe aus, die ihrerseits auf die gleiche Pflanze wieder teilweise als Selbstgifte wirken. Bezüglich der Natur dieser Wurzelausscheidungen stellte Czapek[1]) fest, daß diese aus minimalen Mengen von Kalk, Magnesia, Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure bestehen; nur das Kaliumphosphat tritt dabei etwas reich-

1) Czapek, Fr., Zur Lehre von den Wurzelausscheidungen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXIX. 1896. Heft 3; zit. nach Sorauer, Pflanzenkrankheiten. 1905. p. 136.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

licher hervor. Von Säuren fand Czapek die Ameisensäure in Form des Kaliumsalzes und die Kohlensäure.

Die im Wachstum stillstehenden Wurzeln werden in den schweren Böden, soweit die inneren Diffusionszustände des Pflanzenkörpers dies gestatten, ihre eignen Ausscheidungsprodukte zum Teil wieder aufnehmen. Gleichzeitig wird aber auch infolge übermäßiger Anhäufung dieser Stoffe im Aufenthaltsmedium deren weitere Abgabe aus den Wurzeln gehemmt, was nach Jaeger[1]) für diese von Nachteil ist.

Ohne Zweifel werden diese Verhältnisse bei Sauerstoffmangel den Gewebezerfall und die Fäulnisprozesse begünstigen. Letztere beginnen zumeist an den Wurzelspitzen, da diese, als die jüngsten Teile des Wurzelkörpers, gegen Sauerstoffmangel am empfindlichsten sind, denn „jüngere Lebensstadien vertragen die Sauerstoffabwesenheit weniger lange als ältere“ [Dude[2])].

Die geringe Flüssigkeitsdiffusion der schweren Böden hat aber weiter zur Folge, daß die faulenden Wurzeln ihre eignen verjauchenden Gärungsprodukte aufnehmen und weiterleiten, da die Leitungsbahnen infolge ihrer festeren Beschaffenheit noch lange Zeit intakt bleiben[3]). Wenn die aufgenommenen Mengen dieser Wurzeljauche auch unter gewöhnlichen Verhältnissen relativ gering sind, so sind diese infolge der stark toxischen Wirkung dieses Produktes doch wohl häufig im stande, tiefergreifende Schädigungen des Pflanzenkörpers herbeizuführen. Wie nachteilig diese Faulprodukte auf die Vegetation der Reben einwirken, ist aus den nachstehenden, von mir angestellten Versuchen ersichtlich.

(Fortsetzung in Bd. XX.)

Nachdruck verboten.

Erwiderung an Herrn Hugo Fischer.

Von **Eduard Buchner,** Berlin.

Nachdem mir die Redaktion eine sofortige Antwort freundlichst ermöglicht, sei nur mit wenigen Worten der bleibende Unterschied zwischen der Auffassung des Herrn H. Fischer und der meinigen festgelegt.

Im Gegensatz zu H. Fischer, aber in Uebereinstimmung mit weitaus der Mehrzahl der Physiologen und Chemiker, betrachte ich die Enzyme als unbelebte, wenngleich komplizierte chemische Verbindungen und bin überzeugt, durch den Nachweis der Zymase eine Trennung der Gärungserscheinungen von den Lebensvorgängen erreicht zu haben.

Die obigen Ausführungen des Herrn H. Fischer beweisen meines Erachtens, daß eine weitere sachliche Klärung durch Fortsetzung der Diskussion nicht zu erwarten ist.

Wer sich für die Persönlichkeit des Herrn H. Fischer interessiert, der sei aber auf folgendes aufmerksam gemacht. In meiner letzten Ab-

---

1) Jaeger, G., Ueber Ermüdungsstoffe d. Pflanzen. (Ber. d. d. bot. Ges. 1895. Bd. XIII. p. 71.)

2) Dude, M., Ueber den Einfluß des Sauerstoffentzuges auf pflanzliche Organismen. (Flora. Bd. XCII. p. 251.)

3) Vergl. Hansen, Arbeit d. bot. Inst. in Würzburg. Bd. III. 1888. p. 308. — Böhm, Bericht d. d. bot. Ges. 1889. p. 53.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

handlung findet sich der Satz[1]): „Mir ist vor allem darum zu tun, Klarheit zu schaffen und zweideutige Wendungen, die wie Ausflüchte erklingen, zu vermeiden.“ Unter Hinweis auf diese Stelle schreibt Herr H. Fischer[2]): „Wie ernst es Buchner damit ist, darüber vergl. a. a. O. p. 222 oben.“ Es ist nötig, diesen Absatz hier wörtlich abzudrucken; er lautet[3]): „Durch frischen Hefepreßsaft werden Rohr- und Malzzucker ebenso schnell vergoren wie Traubenzucker. Soviel bekannt, geht jedoch der Spaltung der Disaccharide immer eine Zerlegung durch hydrolytische Enzyme, in unserm Falle durch Invertase bezw. Maltase, in Monosaccharide voraus; eine Verzögerung der alkoholischen Gärung wird aber dadurch nicht bedingt.“ Jedermann wird diese Ausführungen verstehen; Herr H. Fischer aber versucht daran in folgender Weise herumzunörgeln[4]): „Dort wird erst von einer Vergärung der Disaccharide gesprochen, wo nur eine Spaltung mit nachfolgender Vergärung der Spaltprodukte gemeint sein kann, gleich darauf von einer Spaltung der Disaccharide, worunter nach dem Zusammenhang aber nur die alkoholische Gärung, die doch keine Spaltung ist, verstanden werden kann.“ Indem Herr H. Fischer die Begriffe „Spaltung“ schlechtweg und „hydrolytische Spaltung“ verwechselt, sucht er eine Unklarheit zu konstruieren, wo keine vorhanden ist. Warum soll man den Zerfall des Traubenzuckers in Alkohol und Kohlendioxyd nicht eine Spaltung nennen, da die sechsgliedrige Kohlenstoffkette tatsächlich an drei Stellen gespalten wird?

Unerhört ist aber, daß Herr H. Fischer auf Grund solcher nichtigen Vorwürfe meinen ernstlichen Wunsch auf Schaffung von Klarheit zu bezweifeln wagt!

Unter diesen Umständen schließe ich meinerseits die Diskussion mit Herrn Hugo Fischer.

1) Biochemische Zeitschrift. Bd. IV. 1907. p. 232.
2) Dieses Centralbl. Bd. XIX. p. 656. Anm. 3.
3) Biochem. Zeitschr. Bd. IV. 1907. p. 222.
4) Dieses Centralbl. Bd. XIX. 1907. p. 656. Anm. 3.

Inhalt.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber den Käsefehler „kort“ (kurz). (Schluß), p. 750.

Buchner, Eduard, Erwiderung an Herrn Hugo Fischer, p. 799.

Garbowski, Ludwik, Ueber Abschwächung und Variabilität bei Bacillus luteus Smith et Baker (Bacillus luteus sporogenes R. T. Wood Smith and Julian L. Baker) und Bacillus tumescens Zopf. (Forts.), p. 737.

Krieg, Walther, Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces. (Schluß), p. 771.

Molz, Emil, Untersuchungen über die Chlorose der Reben. (Forts.). p. 788.

Weidemann, Carl, Morphologische und physiologische Beschreibung einiger Penicillium-Arten. (Schluß), p. 755.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 13. November 1907.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

JUN 1 5

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIX. No. 26.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XIX enthaltenen Arbeiten.

Aderhold, R., Versuche über den Einfluß häufigen Regens auf die Neigung zur Erkrankung von Kulturpflanzen. 348
— und **Ruhland**, Der Bakterienbrand der Kirschbäume. 355
Appel, O., Beiträge zur Kenntnis der Fusarien und der von ihnen hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten. 606
— Einige Versuche über die Möglichkeit eines parasitären Auftretens von Merulius lacrymans. 609
— und **Bruck, W. F.**, Sclerotinia Libertiana Fuckel als Schädiger von Wurzelfrüchten. 609
Arthur, J. C. and **Kern, F. D.**, North American species of Peridermium. 347
Aso, K., Injurious action of acetates and formates on plants. 372

Bain, S. M. and **Essary, S. H.**, A new anthracnose of alfalfa and red clover. 354
Ballner, Franz, Ueber das Verhalten von Leuchtbakterien bei der Einwirkung von Agglutinationsserum und anästhesierenden chemischen Agentien, nebst Bemerkungen über Pflanzennarkose. *(Orig.)* 572
Barlow, B., s. **Harrison, F. C.**
Bazarewski, v., Beiträge zur Kenntnis der Nitrifikation und Denitrifikation im Boden. 338
Beck, Ueber einen Fruchtäther bildenden Micrococcus (Micrococcus esterificans). 594
Bettencourt, A. et **Borges, J.**, Subsídio para o estudo bacteriológico das águas potaveis de Angra do Heroismo. 595
Bettges, D. W., Zum Nachweis von Sarcinen. 324
Bezzi, M., Ditteri Eritrei raccolti dal Dott. Andreini e dal Prof. Tellini. 620
Bischoff, H., s. **Musehold, P.**
Bissérié, Procédé simple et rapide de préparation des milieux gélosés et gélatinés. 370
Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Edamerkäsereifung. *(Orig.)* 526
— —, Ueber den Käsefehler „kort" (kurz). *(Orig.)* 690. 750
Bokorny, Th., Die „Bios"-Frage und die mineralische Ernährung der Hefe. 331
—, Die Kontaktwirkungen in der biologischen Chemie. Enzym und Plasma. 328
Bolle, J., Ueber die von der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Görz im Jahre 1906 beobachteten Pflanzenkrankheiten und tierischen Schädiger. 349
Borges, J., s. **Bettencourt, A.**
Bréaudat, L., Sur un nouveau microbe producteur d'acétone. 333
Bredig, G., Ueber die physiologische Katalyse. *(Orig.)* 485
Brizi, U., Ulteriori ricerche intorno al brusone del riso. 354
Bruck, W. F. s. **Appel, O.**
Buchner, Eduard, Erwiderung an Herrn Hugo Fischer. *(Orig.)* 799
Buhlert, Untersuchungen über das Auswintern des Getreides. 353
Busse, W., Bericht über die pflanzenpathologische Expedition nach Kamerun und Togo 1904/1905. 350

Carbone, D., Ricerche su l'origine di alcuni pigmenti microbici con speciale riguardo a la tirosinasi. 587
Catoni, G., I geli d'inverno e le viti. 614
Cavara, Fr. e **Mollicia, N.**, Ricerche intorno al ciclo evolutivo di una interessante forma di Pleospora herbarum (Pers.) Rabh. 346
Christensen, Harald R., Eine biologische Methode für die Bestimmung von Alkalikarbonaten im Erdboden. (Vorläufige Mitteilung.) *(Orig.)* 735
Constantineanu, J. C., Ueber die Entwickelungsbedingungen der Myxomyceten. 344

Darboux, G. et **Mingaud, G.**, Un nouvel ennemi des Chrysanthèmes, Phytoecia pustulata Schrk. 621
Delacroix, Georges, État de nos connaissances sur la fermentation du tabac. 344
—, Sur une maladie de la Pomme de terre produite par „Bacillus phytophthorus". 613
—, Travaux de la Station de Pathologie végétale. 612

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Delbrück, M., Wirkung des Getreidegiftes auf untergärige Bierhefe und andere Mikroorganismen. 585
Diedicke, H., Die Blattfleckenkrankheit des Efeus. *(Orig.)* 168
Dietel, P., Monographie der Gattung Ravenelia Berk. 607
—, Uredineen aus Japan. 608
Dietrich, E., Ueber den Hausschwamm. 610
Ducamp, L., Une nouvelle plante nourrice pour l'Orobanche hederae Duby. 357

Eberhart, Versuche über die Keimungsverhältnisse frisch geernteter Samen. 603
— und **Metzner**, Die Wirkungen von Beschädigungen der Pflanzen auf Entwickelung und Ertrag. 604
Eckstein, Maikäferverwertung. 636
Ehrenberg, Die Bewegung des Ammoniakstickstoffs in der Natur. 338
—, Einige Beobachtungen über Pflanzenschädigungen durch Spüljauchenberieselung. 624
Ehrlich, Die chemischen Vorgänge bei der Hefegärung. 334
—, Ueber die Bedingungen der Fuselölbildung. 591
Ellis, David, A contribution to our knowledge of the thread-bacteria I. 1. Leptothrix ochracea (Kutzing). 2. Gallionella ferruginea (Ehrenberg). 3. Spirophyllum ferrugineum (Ellis). *(Orig.)* 502
Essary, S. H., s. **Bain, S. M.**

Faber, v., Ueber den Pustelschorf der Rüben. 360
Falck, R., Erwiderung auf vorstehende Publikation [betr. Hausschwamm]. 610
—, Ueber den Hausschwamm. 361
Fischer, Ed., Ueber den Einfluß des alpinen Standortes auf den Entwickelungsgang der Uredineen. 347
—, **Hugo**, Ueber den Unterschied zwischen lebender und kolloser Substanz. *(Orig.)* 656

Freund, s. **Komers.**
Fuhrmann, Franz, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. V. Bacillus flavus. VI. Bacillus cerevisiae. *(Orig.)* 117. 221

Garbowski, Ludwik, Ueber Abschwächung und Variabilität des Bacillus luteus Smith et Baker (Bacillus luteus sporogenes R. T. Wood Smith and Julian L. Baker) und Bacillus tumescens Zopf. *(Orig.)* 641. 737
Gedroiz, Der Phosphorsäurebedarf des Rotklees im Zusammenhang mit dem Verlauf der Aufnahme des gesamten Nährstoffs und mit der Kleemüdigkeit des Bodens. 343
Giard, A., La Teigne de la Betterave (Lita ocellatella Boyd). 361

Graef, Ueber Karbolineumversuche im Jahre 1906. 375
Gruber, Th., s. **Weigmann, H.**
Guéguen, F., Emploi du Sudan III comme colorant mycologique. 625
Guerbert, M., Notes sur la fermentation du Yoghurt. 336

Hahn, Gotthold, Ueber die in Frage kommenden Pilzarten bei der Pilzvergiftung in Gera am 19. August 1905. 327
Handurin, Ueber die Einwirkung des kohlensauren Kalks auf die Entwickelung der gelben Lupine in Bleisandboden. 603
Hansen, Einige Farbfilter sowie einige histologische Färbungen für mikrophotographische Aufnahmen. 625
Harrison, F. C. and Barlow, B., The nodule organism of the Leguminosae — its isolation, cultivation, identification and commercial application. *(Orig.)* 264. 426
Hecke, Kulturversuche mit Viscum album. 609
Henneberg, W., Einfluß von 12 Säurearten, von Alkohol, Formaldehyd und Natronlauge auf infizierte Brennerei- und Preßhefe. 626
—, Einiges über das Hederich-Spritzverfahren, speziell ein Beitrag über den Einfluß der Witterung auf die Wirkung der Metallsalze. 374
Hilgermann, R., Ueber die Verwendung des Bacillus prodigiosus als Indikator bei Wasseruntersuchungen. 625
Hoffmann, W., s. a. **Rothenbach, F.**
Hollrung, M., Einige Bemerkungen über die während des Jahres 1906 in Deutschland an den Zuckerrüben beobachteten Erkrankungen. 615
—, Ueber die Steigerung der Rübenerträge durch Anwendung von Reizmitteln. 343
Hornberger, Nochmals Streu- und Stickstoff. 340
Houard, C., Anatomie de la „Galle en capsule" de l'Euphorbia Cyparissias L. 620
—, Glanures cécidologiques. 620
—, Sur l'identité de structure des galles involucrales et des galles des pousses feuillées chez les Euphorbes. 621
Howard, L. O., The brown tail moth and how to control it. 623
Huss, Harald, s. a. **Weigmann, H.**
—, Beitrag zur Kenntnis der Erdbeergeruch erzeugenden Bakterien. Pseudomonas fragaroidea nov. spec. *(Orig.)* 661
—, Durch einen Micrococcus hervorgerufene Gelbbraunfärbung von Hartkäse. *(Orig.)* 518
—, Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien. Bacillus esterificans Maassen und Pseudomonas Trifolii nov. spec. *(Orig.)* 50. 149

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Huss, Harald, Zur Charakteristik einer neuen, aus sterilisierter Dosenmilch isolierten Bakterie „Plectridium novum". *(Orig.)* 256. 420

Jacobi, A., Grundriß der Zoologie für Forstleute. 363

Jensen, Orla, Einige Bemerkungen über Lab und Labbereitung. 592

Issatschenko, B., Zur Erforschung des Bakterienlichtes. *(Orig.)* 116

Katayama, T., On the preparation of a vegetable cheese from the protein of the Soy-bean. 601

Kauffman, C. H., Cortinarius as a mycorrhiza-producing fungus. 614

Kelhofer, Ueber die Ausführung und die Ergebnisse von Haftfestigkeitsversuchen kupferhaltiger Bekämpfungsmittel gegen die Peronospora. 373

Kempski, E., Ueber endozoische Samenverbreitung und speziell die Verbreitung von Unkräutern durch Tiere auf dem Wege des Darmkanals. 362

Kern, F. D., s. **Arthur, J. C.**

Kirchner, Ueber die Empfänglichkeit verschiedener Weizensorten für die Steinbrandkrankheit. 354

Kirkaldy, G. W., Leaf-Hoppers-Hemiptera. — Leaf-Hoppers and their natural enemies. Pt. IX. 364

Koch und **Lüken,** Ueber die Veränderung eines leichten Sandbodens durch Sterilisation. 342

Köck, G., Praktische Erfahrungen mit Formaldehyd als Getreidebrandbekämpfungsmittel. 373

Koestler, Guido, Der Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit typischer Milchsäurebakterien. *(Orig.)* 40. 128. 236. 394

Komers und **Freund,** Die Wertbestimmung des Rübensamens. 360

Kornauth, K., Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen und Pflanzenschutzstation in Wien für das Jahr 1906. 324

Krieg, Walther, Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces. *(Orig.)* 697. 771

Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. *(Orig.)* 1. 97. 202. 385

Kunze, s. a. **Schneider.**

Kusano, S., On the cytology of Synchytrium. *(Orig.)* 538

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 587

Laubert, R., Cryptosporium minimum nov. spec. und Frostbeschädigung an Rosen. *(Orig.)* 163

—, Ueber eine Einschnürungskrankheit junger Birken und die dabei auftretenden Pilze. 619

Laubert, R., Ueber eine neue Erkrankung des Rettichs und den dabei auftretenden endophyten Pilzen. 614

Laxa, Otakar, Ueber den Einfluß der Laktose und der Milchsäure auf die Zersetzung von Kasein durch die Mikroorganismen. 593

Lebedeff, S., Zur Wirkung von Oxalsäure auf Brauerei- und Preßhefe. 584

Le Dantec, A., Le microbe du rouge de morue. 326

—, Note sur une nouvelle catégorie de microbes: les microbes chlorurophiles. 326

Lemée, E., Les Ennemis des Plantes. 3. et 4. séries. Suppl. No. 1: Balais de sorcière, Exoascus, Taphrina. 621

Leonardi, G., Diagnosi di Cocciniglie nuove. 622

Linhart, Pseudoperonospora Cubensis auf Melonen und Gurken. 356

Löhnis, F., Zur Frage der Stickstoffbindung im Ackerboden. 602

— und **Pillai, N. K.,** Ueber stickstofffixierende Bakterien. II. *(Orig.)* 87

Loew, Oskar, Ueber die Veränderung des Zellkernes durch kalkfällende Mittel. 372

Massee, G., Text-book of fungi including morphology, physiology, pathology, classification etc. 344

Meijere, J. C. H. de, Ueber zwei neue holländische Cecidomyiden, von welchen die eine an Kohlpflanzen schädlich ist. 622

Metzner, s. **Eberhart.**

Mingaud, G., s. **Darboux, G.**

Mollicia, N., s. a. **Cavara, Fr.**

Molz, Emil, Untersuchungen über die Chlorose der Reben. *(Orig.)* 461. 563. 715, 788

Müller, Wilhelm, Zur Kenntnis der Euphorbia-bewohnenden Melamsporen. *(Orig.)* 441. 544

Musehold, P. und **Bischoff, H.,** Sicherstellung der Trinkwasserversorgung im Felde. 594

Natan, L. und **Fuchs, W.,** Ueber die Beziehungen des Sauerstoffs und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und der Gärtätigkeit der Hefe. 334

Nielsen, J. C., Ueber die Entwickelung von Agromyza carbonaria Zett., der Urheber der „Markflecken". 370

Nikitinsky, J., Die anaërobe Bindung des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. (Vorläufige Mitteilung.) *(Orig.)* 495

Novotný, J., Beiträge zur Trinkwasserdesinfektion mit Peroxyden. *(Orig.)* 174

Okazaki, K., Eine neue Aspergillusart und ihre praktische Anwendung. *(Orig.)* 481

Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Omelianski, W., Kleinere Mitteilungen über [illegible] 263
Ott de Vries, J. J., s. a. **Beckhout, F. W. J.**

Pantanelli, E., [illegible] al bisolfito e [illegible] per la Lambrusco 336
Peri[illegible], V., Die Kresse als Schmarotzerpflanze der Zuckerrübe und des [illegible] 337
— [illegible] a le risaje e dei [illegible] per [illegible] 354
— [illegible] di emiparassitismo [illegible] 356
Peretti, R., Per l'esame batteriologico [illegible] 371
— [illegible] del Nitroso[illegible] 337
Petri, L., [illegible] studii su la Brusca [illegible]
— [illegible] sopra la batteriosi del fico. 355
— Untersuchungen über die Identität des [illegible] (Orig.) 331
Pillai, N. K., s. a. **Löhnis, F.**
Pringsheim, Hans, Ueber die Stickstoff[illegible] der Hefe. (Orig.) 310
Probst, Rene, Versuche mit Kompositen[illegible] (Vorläufige Mitteilung.) (Orig.) 543
Purvis, J. E. and **Warwick, G. R.,** The [illegible] spectra [illegible] on the spo[illegible] 333

Report of the Soil Chemist and Bacteriologist. XXVI. annual report of the New Jersey State Agricultural Experiment Station. New-Brunswick. 318
Rössler, Oskar, Der Nachweis von Cre[illegible] im Trinkwasser. 370
Rossi, G. e **Guarnieri, F.,** Contributo allo studio della formazione dell' humus. 337
Rothenbach, F. und **Hoffmann, W.,** Versuche zur Erhöhung der Oxydationswirkung der Essigbildner durch Zusatz von Eisen- und Mangansalzen. 586
Rubner, Max, Ueber spontane Wärmebildung in der Milch und die Milchsterilisierung 334
Rübsaamen, Ew. H., Ueber Bildungsabweichungen bei Vitis vinifera L. und auf dieser Pflanze lebende Cecidomyiden. 583

Ruhland, s. a. **Aderhold.**

Salmon, Der Ausbruch des amerikanischen Stachelbeer-Meltaus in England. 614
Sasarow, Zur Frage über die Nitrifikation [illegible] Beeinflussung durch verschiedene Faktoren, und die Menge von Nitraten im Boden zu verschiedenen Jahreszeiten. 601
Sato, Y., Untersuchungen über Schleimbildung in Milch. (Orig.) 27
Sawamura, On the micro-organismus of Natto. 335
Scalia, G., Acarosi della vite. 364
Schaffnit, Das Auftreten der Ephestia figulilella im Reisfuttermehl. 309
Schander, R., Die im Jahre 1906 in den Provinzen Posen und Westpreußen beobachteten Krankheiten und Schädlinge der Rübe. 617
Schardinger, Franz, Zur Biochemie des Bacillus macerans. *(Orig.)* 161
Schiller, K., s. a. **Schorler, B.**
Schiller-Tietz, Die Empfänglichkeit der Kulturpflanzen für Schmarotzerkrankheiten. 604
Schneider und **Kunze,** Spinnfasern und Färbungen im Ultramikroskop. 626
Schönfeld, F., Die Sarcinafrage auf Grund neuerer Versuche. 323
—, Ist der Hefeauftrieb als wesentliches Charakterisierungsmerkmal bei der Obergärung anzusehen und liegen Erfahrungen darüber vor, daß die obergärigen Hefen durch die Gärführung ihr Auftriebsvermögen verlieren können? 323
—, Weitere Untersuchungen über die Schleimkrankheit des Berliner Weißbieres. 322
Schorler, B., Thallwitz, J. (mit Beiträgen von K. Schiller), Pflanzen- und Tierwelt des Moritzburger Großteiches bei Dresden. 596
Schorr, Ein neues Modell eines einfachen beweglichen Objekttisches. 625
Schorstein, Josef, Ueber Polyporus vaporarius (Pers.). 609
Schulze, Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwickelung der Pflanzen. 341
Seligmann, E., Ueber die Prüfung gereinigter Abwässer auf ihre Zersetzungsfähigkeit. 596
Sforza, Claudio, Sulle cause d'inquinamento da microorganismi del brodo concentrato, che si prepara a Casaralta (Bologna) per il R. esercito e sul modo di evitarle. 327
Slaus-Kantschieder, J., Ueber die von der k. k. landwirtschaftlichen Lehr- und Versuchsanstalt in Spalato im Jahre 1906 beobachteten Pflanzenkrankheiten und tierischen Schädiger. 605
Smidt, Henry, Ueber die sogenannte Reduktase der Milch. 334
Sorauer, Der Rosenkrebs. 618
Soukup, J., Schoßrüben und Tradition. 35[illegible]
Stift, A., Mitteilungen über im Jahre 1906 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten auf dem Gebiete der Zuckerrüben- und Kartoffelkrankheiten. *(Orig.)* 29[illegible]
Stigell, R., Ueber die Einwirkung der Bakterien auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens. *(Orig.)* 4[illegible]
Stockhausen, F., Oekologie, „Anhäufun-

Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

gen" nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht. 584
Stutzer, Beobachtungen über die Wirkung von Nitrit und von Impferde auf Sojabohnen. 341
—, Untersuchungen über die Wirkung sehr hoher Gaben von schwefelsaurem Ammoniak bei Gegenwart von organischen Substanzen und von kohlensaurem Kalk im Boden. 341
Swellengrebel, N. H., Zur Kenntnis der Cytologie der Bakterien. *(Orig.)* 193

Thallwitz, J., s. a. **Schorler, B.**
Tirelli, E., I termofili delle acque potabili. 328
Tranzschel, W., Kulturversuche mit Uredineen im Jahre 1906. 608
Traverso, J. B., Flora italica cryptogama. Pars I. Fungi. 610
Trotter, A., Su la struttura istologica di un micocecidio prosoplastico. 619
Tubeuf, v., Perennieren des Aecidienmycels vom Birnenrostpilz. 618

Ulpiani, C., Evoluzione chimica e biochimica della calciocianamide nel terreno agrario. 337

Verhandlungen der VII. Sektion „Land- und Forstwirtschaftlicher Pflanzenschutz (Pflanzenkrankheiten, Pflanzenschädlinge und deren Bekämpfung, Schutz nützlicher Tiere am VIII. internationalen landwirtschaftlichen Kongreß am 22. und 23. Mai 1907 in Wien. 577
Vogler, P., Zoocecidien von St. Gallen und Umgebung. I. Teil. 364
Voglino, P., Su lo sviluppo e sul parassitismo del Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderhold. 606
Vosseler, J., Der Nutzen der angewandten Entomologie. 619
—, Die Baumwollkäfer-Ameise aus Guatemala. 623
—, Die Feinde der Kokospalme. 611
—, Die Wanderheuschrecken in Usambara im Jahre 1903/1904, zugleich ein Beitrag zu ihrer Biologie. 366
—, Eichhörnchen als Baumwollverderber. 624
—, Gurkenschädlinge in Ostusambara. 356
—, Noch einmal die Kräuselkrankheit. 622
Vries, Ott de, s. **Ott de Vries.**

Wächter, W., Zur Kenntnis der Wirkung einiger Gifte auf Aspergillus niger. *(Orig.)* 176. 272
Weidemann, Carl, Morphologische und physiologische Beschreibung einiger Penicillium-Arten. *(Orig.)* 675. 755
Weigmann, H., Gruber, Th. und **Huss, H.,** Ueber armenisches Mazun. *(Orig.)* 70
Wibiral, R., Infektionsgefahr durch Pferdestallungen in der Nähe von Kühlschiffen, insbesondere durch die Harnsarcina. 584
Wildeman, E. de, Les maladies du caféier au Congo indépendant. 612
Wilhelmj, A., Eine eigenartige Rübenkrankheit. 358
Wolf, Kurt, Abtötung von Bakterien durch Licht und Selbstreinigung der Flüsse. 635
Wurth, Th., Ueber neue Rostpilze auf Galium. 607

Zederbauer, Emerich, Die Folgen der Triebkrankheit der Pseudotsuga Douglasii Carr. 352

II. Namen- und Sachverzeichnis.

Abschwächung bei Bac. luteus und Bac. tumescens. 641. 737
Abwässer, gereinigte, Prüfung auf ihre Zersetzungsfähigkeit. 596
Acanthocystis spinifera, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— turfacea, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Acetate, Wirkung auf Pflanzen. 372
Aceton, Bildung durch Bac. violarius acetonicus. 333
Acroperus harpae, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Actinophrys sol, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Aecidium auf Ranunculus auricomus, Infektionsversuche, Formenkreis. 771
— auf Ranunculus bulbosus, Infektionsversuche mit Aecidiosporen, Formenkreis 713
Aecidium auf Ranunculus bulbus, Infektionsversuche mit Teleutosporen, Formenkreis. 714. 771
— auf Ranunculus platanifolius, Infektionsversuche mit Aecidio- und Uredosporen. 705
— auf Ranunculus platanifolius, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 706
— auf Ranunculus silvaticus, Infektionsversuche, Formenkreis. 711
— Ficariae Pers., Beziehung zu Uromyces Poae Rabh. 703. 704
— — —, Infektionsversuche mit Aecidio- und Uredosporen. 700
— — —, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 703

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aecidium, Semiaquilegiae n. sp. Diet. auf Semiaquilegia adoxoides in Japan. 608
Aecidiumgeneration von Gymnosporangium tremelloides, Perennieren. 578
Aethallium septicum, Plasmodienbildung. 345
— —, Sporenkeimung. 344
Agglutinationsserum, Wirkung auf Leuchtbakterien. 572
Agromyza carbonaria Zett., Entwickelung. 370
Agrotis segetum, Zuckerrübenschädling. 617
Aleyrodiden, Schädlichkeit. 365
Alkalibildung durch Bac. luteus. 738
Alkalikarbonate, biolog. Bestimmung im Boden. 735
Alkohol, Wirkung auf Essigbakterien. 634
—, Wirkung auf Hefe. 634
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 634
—, Wirkung auf Oidium lactis. 634
Alonella nana, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599. 600
Alonopsis latissima Kurz, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Alternaria solani s. Macrosporium solani. 302
Amanita bubbosus Bull. s. Amanita phalloides viridis.
— pantherina D.C., Giftigkeit. 327
— phalloides Mappa, Giftigkeit. 327
— — viridis, Giftigkeit. 327
— verna Bull. s. Amanita phalloides viridis.
Amaurochaete atra, Plasmodienbildung. 346
— —, Sporenkeimung. 344
Ameise, Baumwollkäfer-, s. Kelep.
Ameisen, Schädlinge der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Ameisensäure, Wirkung auf Essigbakterien. 630
—, Wirkung auf Hefe. 630
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 630
—, Wirkung auf Oidium lactis. 630
Amerika Nord-, Vorkommen von Peridermium-Arten. 347
Ammoniak, Aufnahme durch höhere Pflanzen. 339
—, Bindung im Boden durch Bakterien. 339
—, schwefelsaures, Einfluß auf die Gärwirkung der Hefe. 312
— —, Wirkung im Boden. 341
Ammoniaksalze, Tauglichkeit für die Ernährung der Hefe. 310
Ammoniakstickstoff, Bewegung in der Natur. 338
Ammoniakverdunstung, Bedeutung für die Selbstreinigung der Flüsse. 339
Amoeba, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Amphileptus carchesii, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Amygdalus communis, durch Fusicoccum amygdali geschädigt. 612
Anabaena macrocarpa, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598
Anaëroben, Untersuchungstechnik. 1. 97. 202. 385
—, Züchtungsmethoden. 2. 97. 202. 385
Anaërobiose, Lehre. 1. 109. 202. 385. 588
Anaesthetica, Wirkung auf Leuchtbakterien. 572
Anhäufungen nach Beijerinck. 584
Anthomyia conformis, Zuckerrübenschädling. 618
Anthonomus grandis Boh., Bekämpfung durch die „Kelep“ (Baumwollkäfer-Ameise). 623
— piri Boh., Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
— pomorum, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 325. 349
Antiseptica, mineralische und organische, Wirkung. 587
Anuraea aculeata, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— cochlearis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598. 599
Apfelbaumgespinstmotte s. Hyponomeuta malinella.
Apfelblütenstecher s. Anthonomus pomorum.
Apfelwickler s. Carpocapsa pomonella.
Aphanomyces laevis, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 294
Aphelenchus Fragariae, Auftreten. 582
— olesistus, Verbreitung. 582
— Ormerodis, Auftreten. 582
Aphiden, Schädlichkeit. 365
—, Zuckerrübenschädlinge. 616. 618
Aphis sorghella Schout., Sorghumparasit in Togo. 352
Aralia Sieboldi, Wirt von Orobranche hederae Duby. 357
Arcella dentata Ehrbg., Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Arcyria incarnata, Sporenkeimung. 344
Aroma, Bildung durch Bac. esterificans Maassen. 50. 68
—, Bildung durch Bakterien. 50. 149
—, Bildung durch Micrococcus esterificans. 594
—, Bildung durch Pseudomonas fragaroides. 661
—, Bildung durch Pseudomonas Trifolii. 149
Arthrocnodax vitis Rübs., Beziehung zu Eriophyes vitis. 364
Ascobacterium luteum, Beziehung zur Tuberkelkrankheit des Oelbaumes. 532
Asellus aquaticus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Asparagin, Einfluß auf die Gärwirkung der Hefe. 312
—, Tauglichkeit für die Ernährung der Hefe. 310
Aspergillus glaucus, Hopfenschädling. 589
— niger, Wirkung einiger Gifte. 176. 272
— Okazakii n. sp., Morphologie. 481
— — —, Physiologie. 482
Aspidiotiphagus citrinus Craw., zur Bekämpfung von Chionaspis Evonymi. 349

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aspidiotus destructor, durch Chilocorus-Arten geschädigt. 352
— — Sign., Parasit auf Calophyllum in Togo. 352
— — —, Parasit der Kokospalme in Togo. 352
Asplachna brightwelli, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— priodonta, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Assel, Schädling der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Asterionella gracillima, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598
Atomaria linearis, Zuckerrübenschädling. 289
Auchenorhynchi, Systematik. 366
Aulax papaveris, Gallenbildung an Papaver Lecopii. 620
Auswintern des Getreides, Untersuchungen. 353
Azotobacter zur Bestimmung von Alkalikarbonaten im Erdboden. 735
— Beyerincki, Stickstoffbindung. 318
— chroococcum, Stickstoffbindung. 318
— vinelandii, Stickstoffbindung. 318
— woodstownii, Unfähigkeit, Stickstoff zu binden. 319
Bacillus acidificans longissimus Leichmann, Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit. 40. 128
— anthracis, anaërob. Kultur nach Fermi und Bassu. 113
— —, Farbstoffbildung. 587
— asterosporus, anaërobes Wachstum. 216
—, Buttersäure-, beweglicher, anaërobe Züchtungsmethode. 113. 212
— —, unbeweglicher, anaërobe Züchtungsmethode. 112. 212
— casei ε, Einfluß von Bacillus mesentericus. 255. 394
— — —, Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit. 40. 128. 137. 236. 394
— — —, Einfluß von Mycoderma Rütti. 254
— — —, Einfluß des N-Gehaltes des Nährbodens auf die Säuerungsintensität. 140
— — —, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 418
— cerevisiae, Vorkommen im Flaschenbiere. 222
— —, Wachstum auf anorganischen Nährlösungen mit besonderen N- und C-Quellen. 229
— —, Wachstum auf festen Nährsubstraten. 222
— —, Wachstum in flüssigen Nährsubstraten. 225
— coli, Farbstoffbildung. 587
— —, Wachstum auf anorganischen Nährlösungen mit besonderen N- und C-Quellen. 229
— — communis, Wirkung auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens. 500
Bacillus esterificans Maassen, Aromabildung. 50. 68
— — — als Butteraromabakterie. 62
— — —, Eigenbewegung. 52
— — —, Färbbarkeit. 52
— — —, Fettgehalt. 66
— — —, Fundort. 50
— — —, Glykogengehalt. 66
— — —, Indolbildung, Nachweis. 61
— — —, Iogengehalt. 66
— — —, kulturelle Merkmale. 53
— — —, mikrochemische Untersuchung des Protoplasten. 65
— — —, Säurebildung. 60
— — —, Schwefelwasserstoffbildung. 59
— — —, Sporenkeimung und Sporangienbildung. 51
— — —, Verhalten in einer Milchkultur zusammen mit Micrococcus lacticus. 62
— — —, Volutingehalt. 67
— — —, Widerstandsfähigkeit der Sporen. 53
— flavus, Farbstoffbildung. 120
— —, Vorkommen im Flaschenbier. 117
— —, Wachstum auf anorganischen Nährlösungen mit besonderen N- und C-Quellen. 125. 221
— —, Wachstum auf festen Nährsubstraten. 118
— —, Wachstum in flüssigen Nährsubstraten. 122
— fluorescens liquefaciens, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 360
— gummosus, Schleimbildung. 37
— icteroides, Farbstoffbildung. 587
— irritans n. sp. Aderh. u. Ruhl., Beschreibung. 356
— lactis acidi, Zersetzung des Kaseins. 593
— — aërogenes, Schleimbildung. 37
— — viscosus, Schleimbildung. 37
— Lebenis, Vorkommen im Yoghurt. 336
— liquefaciens, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 360
— luteus Smith et Baker, Abschwächung. 641. 737
— — — — —, Alkalibildung. 738
— — — — —, Diastasebildung. 739
— — — — —, Entwickelung auf Agar. 648.
— — — — —, Entwickelung auf flüssigen Nährmedien. 655. 737
— — — — —, Entwickelung auf Kartoffel. 654
— — — — —, Entwickelung auf Möhre. 655
— — — — —, Farbstoffbildung. 739
— — — — —, Merkmale. 747
— — — — —, Säurebildung. 738
— — — — —, Sporenbildung. 739
— — — — —, Sporengröße. 646
— — — — —, Variabilität. 641. 737
— — sporogenes R. T. Wood Smith and Julian L. Baker s. Bacillus luteus Smith et Baker.
— macerans, Biochemie. 161
— —, Brauchbarkeit für die Zwetschengeistbereitung. 161

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacillus malabarensis n. sp. aus indischer Reisfelderde, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 91
— — — —, Stickstoffbindung. 94
— Mazun (Gruber und Huss), kulturelle Eigenschaften. 74
— —, Milchsäuerungsversuche. 84
— —, Morphologie. 72
— —, Physiologie. 74. 78
— —, Rolle bei der Reifung des Mazun. 71. 83
— mesentericus, Einfluß auf Bac. casei ε u. Bact. Güntheri. 255. 394
— — fuscus, Wirkung auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens. 500
— — vulgaris, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 360
— — vulgatus, Sauerstoffbindung. 206
— — —, Schleimbildung. 36
— mycoides, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 360
— Natto n. sp. Sawamura, morphologische und kulturelle Merkmale. 336
— oedematis maligni, anaërobe Kultur nach Fermi und Bassu. 113
— oleae, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 534
— oxalaticus, Stickstoffbindung. 94
— pestis, Farbstoffbildung. 587
— phytophthorus, Kartoffelschädling, Differentialdiagnose gegenüber Bac. solanicola. 613
— —, Wirkung auf Tiere. 309
— prodigiosus, Farbstoffbildung. 587
— — als Indikator bei Wasseruntersuchungen. 625
— putrificus coli, anaërobe Züchtungsmethode. 22. 112. 202
— pyocyaneus, Farbstoffbildung. 587
—, Rotz-, des Oelbaumes, Identität. 531
— solanicola, Kartoffelschädling, Differentialdiagnose gegenüber Bac. phytophthorus. 613
— spongiosus n. sp. Aderh. u. Ruhl., Ursache des Bakterienbrandes der Kirschbäume. 355
— subtilis aus indischer Reisfelderde. 92
— —, Stickstoffbindung. 94
— —, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 360
— —, Wirkung auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens. 500
— tetani, anaërobe Züchtungsmethode. 113. 212
— tumescens Zopf, Entwickelung. 749
— violarius acetonicus n. sp. Bréaudat, Acetonbildung. 333
— viscosus van Leer, Schleimbildung. 37.
— — sacchari, Schleimbildung. 36
— — vini, Schleimbildung. 36
Bacterium binucleatum, Kern- und Zellstudien. 193
— butyricum, Giftwirkung des Sauerstoffes. 588
— chrysogloea aus indischer Reisfelderde, kulturelle Eigenschaften. 93
Bacterium chrysogloea aus indischer Reisfelderde, Stickstoffbindung. 94
— coli (Escherich) L. et N., anaërobes Wachstum. 215
— — als Indikator für Fäkalverunreinigung des Wassers. 596
— Fici Cav., Schädling des Feigenbaumes. 355
— Güntheri, Einfluß von Bac. mesentericus. 255. 394
— — L. et N., Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit. 40. 128. 137. 236. 394
— — —, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 417
— — —, Vorkommen im Mazun. 71
— hyperanaërobes, anaërobe Züchtungsmethode. 113. 213
— Krakataui, Stickstoffbindung. 95
— lactis acidi Leichmann s. a. Bacterium Güntheri.
— — — —, Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärtätigkeit. 137. 236. 394
— lipsiense, Stickstoffbindung. 94
— Mazun, Milchsäuerungsversuche. 84
— —, Morphologie und Biologie. 78
—, Milchsäure-, Vorkommen in Mazun, s. a. Bacterium Mazun. 78
— phosphoreum als Sauerstoffreagens. 25. 99. 207
— —, Wirkung von Agglutinationsserum und Anaestheticis. 572
— pneumoniae aus indischer Reisfelderde, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 89. 94
— — —, Stickstoffbindung. 94
— radiobacter var. gasoformans aus indischer Reisfelderde, Morphologie und Biologie. 92
— — — —, Stickstoffbindung. 94
— tartaricum n. sp. aus indischer Reisfelderde, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 93
— — —, Stickstoffbindung. 94
— turcosum aus indischer Reisfelderde, kulturelle Eigenschaften. 93
— — —, Stickstoffbindung. 94
Badhamia macrocarpa, Plasmodienbildung. 346
— —, Sporenkeimung. 345
Bakterien, Abtötung durch Licht. 635
—, Acetonbildung. 333
—, aërobe, Einfluß auf die Milchsäurebakterien. 254. 394
— —, Züchtungsverfahren. 587
—, Ammoniakbindung im Boden. 339
—, anërobe, Untersuchungstechnik. 1. 97. 202. 385
— —, Züchtungsmethoden. 2. 97. 202. 385. 587
—, Anaërobiose. 1. 109. 202. 385.
—, aromabildende, morpholog.-physiologische Studien. 50. 149
—, Aromabildung. 50. 149. 594. 661

Bakterien, Beziehung zur Einschnürungskrankheit der Birke. 619
—, Beziehung zur Herz- und Trockenfäule der Zuckerrübe. 617
—, Boden-, Stickstoffbindung. 318
—, chlorürophile. 326
—, Einfluß von Laktose und Milchsäure auf die Zersetzung des Kaseins durch dieselben. 593
—, Eisen-, Untersuchungen. 502
—, Erdbeergeruch erzeugende, Untersuchungen. 661
—, Essig-, Erhöhung der Oxydationswirkung durch Eisen- u. Manganzusatz. 586
— —, Wirkung von Alkohol. 634
— —, Wirkung von Ameisensäure. 630
— —, Wirkung von Buttersäure. 631
— —, Wirkung von Essigsäure. 631
— —, Wirkung von Flußsäure. 628
— —, Wirkung von Formaldehyd. 634
— —, Wirkung von Milchsäure. 631
— —, Wirkung von Natronlauge. 635
— —, Wirkung von Oxalsäure. 633
— —, Wirkung von Phosphorsäure. 630
— —, Wirkung von Salpetersäure. 629
— —, Wirkung von Salzsäure. 628
— —, Wirkung von Schwefelsäure. 629
— —, Wirkung von Weinsäure. 633
— —, Wirkung von Zitronensäure. 633
—, Faden-, Untersuchungen. 502
—, Fäulnis-, Widerstandsfähigkeit der Kartoffel gegen dieselben. 306
—, Farbstoffbildung. 120. 152. 159. 518. 739
—, Farbstoffbildung mit Beziehung zur Tyrosinase. 587
—, Giftwirkung des Sauerstoffes. 588
—, Humusbildung. 337
—, Knöllchen-, Impfung des Bodens. 325
—, Leucht-, Besprechung. 590
— —, Wirkung von Agglutinationsserum und Anaestheticis. 572
—, Lichtbildung. 590
—, Milch-, reduzierende Wirkung. 335
—, Milchsäure-, Beziehung zur Wärmebildung in der Milch. 334
— —, Einfluß aërober Mikroorganismen auf dieselben. 254. 394
— —, Gärtätigkeit, Einfluß des Luftsauerstoffes auf dieselbe. 40. 128. 236. 394
— —, Wirkung von Alkohol. 634
— —, Wirkung von Ameisensäure. 630
— —, Wirkung von Buttersäure. 631
— —, Wirkung von Essigsäure. 630
— —, Wirkung von Flußsäure. 628
— —, Wirkung von Formaldehyd. 634
— —, Wirkung von Milchsäure. 631
— —, Wirkung von Natronlauge. 635
— —, Wirkung von Oxalsäure. 633
— —, Wirkung von Phosphorsäure. 630
— —, Wirkung von Salpetersäure. 629
— —, Wirkung von Salzsäure. 628
— —, Wirkung von Schwefelsäure. 629
— —, Wirkung von Weinsäure. 633
— —, Wirkung von Zitronensäure. 633
—, Nachweis im Boden. 371
Bakterien, Nitrifikations-, Färbung. 263
—, Nitrifikation und Denitrifikation im Boden. 338
—, photogene, Besprechung. 590
—, Rolle bei der Edamerkäsereifung. 526
—, Rolle bei der Nattogärung. 335
—, Rolle bei der Tabakreifung. 344
—, Rolle bei der Yoghurtgärung. 336
—, Schleimbildung, Wesen derselben. 33
—, stickstoffbindende in indischer Reisfelderde. 87
—, Stickstoffbindung im Ackerboden. 602
—, thermogene, Besprechung. 588
— als Ursache des Rotwerdens des Kabliaus nach dem Einsalzen. 326
—, Ursache der Schlafsucht der Seidenraupe, Bekämpfung. 350
—, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrüben. 360
—, Vorkommen in armenischem Mazun. 70
—, Vorkommen im Flaschenbiere. 117. 221
—, Vorkommen in Milch. 256. 420
—, Wärmebildung. 588
—, Wasserstoffbindung, anaërobe. 495
—, Wirkung von Peroxyden. 186
—, Wirkung auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens. 499
—, Cytologie. 193
Bakterienbrand der Kirschbäume durch Bac. spongiosus verursacht. 355
Bakterienflora im Flaschenbiere. 117. 221
Bakterienlicht, Erforschung. 116
Bakteriose des Feigenbaumes, Ursache. 355
Bathycoelia thalassina Schout., Kakaobaumparasit in Togo. 350
Baumwolle, Kräuselkrankheit, Ursache. 622
—, Krankheiten und Schädlinge in Togo. 351
—, durch Sciurus palliatus geschädigt. 624
Baumwollkäfer s. Anthonomus grandis Boh. 623
Baumwollwanze s. Oxycarenus hyalinipennis.
Baumwollwurm s. Earias insulana.
Berberis vulgaris, Wirkung von Narcoticis. 575
Beschädigungen der Pflanzen, Wirkung auf deren Entwickelung und Ertrag. 604
Beta maritima, eine zweijährige Pflanze. 300
Betula s. a. Birke.
Bewegung der Nährlösung, Einfluß auf die Gärtätigkeit der Hefe. 334
Bibio hortulans, Zuckerrübenschädling. 616
Bier, Flaschen-, Bakterienflora. 117. 221
—, Weiß-, Schleimkrankheit. 322
—, Wirkung der Sarcinen. 323
Bios, Eigenschaften. 331
Birke s. a. Betula.
—, Einschnürungskrankheit und dabei auftretende Pilze. 619
—, Mykorrhizabildung durch Cortinarius-Arten. 614

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Birnenknospenstecher s. Anthonomus piri Boh.
Birnenrostpilz, Perennieren des Aecidienmycels. 618
Blasenkäfer s. Mylabris bihumerosa Mars.
Blattfleckenkrankheit des Efeus, Ursache. 168
Blattfleckenkrankheit der Zuckerrübe durch Cercospora beticola verursacht. 298. 614
Blattläuse, Zuckerrübenschädlinge. 616. 618
Blattlaus s. a. Aphis.
Blattrollkrankheit der Kartoffel, Ursache. 302
Blissus, leucopterus, Schädlichkeit. 365
Blutlaus s. Schizoneura lanigera.
Boden, Acker-, Stickstoffbindung. 602
—, Ammoniakbindung durch Bakterien. 339
—, bakteriologische Untersuchung. 371
—, biologische Bestimmung von Alkalikarbonaten. 735
—, Kleemüdigkeit, Ursache. 343
—, Nitrifikation und Denitrifikation, Temperaturoptimum. 338
— Roms, Vorkommen von Nitrosomonas europaea var. italica. 377
—, Sand-, Veränderung durch Sterilisation. 342
—, stickstofffixierende Bakterien. 87
—, Tschernosem-, Nitrifikation. 601
—, Umwandlung des Kalkstickstoffes. 337
—, Wirkung der Bakterien auf das Wärmeleitungsvermögen desselben. 499
—, Wirkung von schwefelsaurem Ammoniak. 341
Bodenbakteriologie, Bericht der New Jersey State Agric. Exper. Station. 318
Bodenchemie, Bericht der New Jersey State Agric. Exper. Station. 318
Bodensterilisation, Wirkung auf die Pflanzenentwickelung. 341
Bordeauxbrühe, Haftfestigkeitsversuche. 373
Bosmina coregoni, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Bosmina longirostris, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Botrytis Bassiana, Seidenraupenschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 350
— cinera, Identität mit Botrytis Douglasii. 352
— Douglasii, Identität mit Botrytis cinera. 352
— —, Schädling der Pseudotsuga Douglasii Carr. 352
Botys sileacealis Hbn., Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 350
Bouillon, Verunreinigung durch Hyphomyceten. 327
Brauerei, Infektion von Kühlschiffen durch nahe Pferdestallungen. 584
Brauereihefe s. Hefe, Brauerei-.
Brennreizker s. Galorrheus pyrogalus Bull.
Brotkäfer s. Tribolium, Tenebroides mauritanicus L.
brown tail moth, Goldafter, s. Porthesia chrysorrhoea.
brusca der Olive, durch Stictis Panizzei verursacht. 356
„brusone“ des Reises, Ursache 354.
Bupestris cariosa, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 605
Burgunderbrühe, Haftfestigkeitsversuche. 373
Butteraroma, Bildung durch Bac. esterificans Maassen. 62
Buttersäure, Wirkung auf Essigbakterien. 631
—, Wirkung auf Hefe. 631
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 631
—, Wirkung auf Oidium lactis. 631
Buttersäurebacillus s. Bacillus, Buttersäure-.
Calandra granaria L., Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
— oryzae, Fortpflanzungs- und Lebensfähigkeit. 326
— — L., Maisschädling in Oesterreich im Jahre 1906. 349
— —, Maisschädling in Togo. 352
Calophyllum, Wirt von Aspidiotus destructor Sign. 352
Candona candida, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— pubescens, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Canthocamptus northumbricus Brady, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Carpocapsa pomonella, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 325
Castilloa elastica, durch Inesida leprosa geschädigt. 351
Cecidie, Myko-, auf Grewia venusta. 619
— Psyllido-, Gallenbildung an Eugenia malaccensis. 620
Cecidien, Untersuchungen. 620
—, Zoo-, von St. Gallen und Umgebung. 364
Cecidomyiden, afrikanische. 620
— der Kohlpflanzen. 622
— des Weinstockes. 363
Ceiba pentranda, Wirt von Dysdercus superstitiosus. 351
Centropyxis ecornis Leidy, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Ceratilis capitata Wied., Bekämpfung. 579
Cercodaphnia, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Cercospora beticola Sacc., Ursache der Blattfleckenkrankheit der Zuckerrübe. 298. 617
Ceroplastes bussei Newst., Kakaobaumparasit in Togo. 350
— theobromae Newst., Kakaobaumparasit in Togo. 350
Chatogaster diaphanus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Cheimatobia brumata L., Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Chemie, biolog., Kontaktwirkungen in derselben. 328
Chemikalien, Wirkung auf Aspergillus niger. 176. 272

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Chilocorus-Arten, Feinde des Aspidiotus destructor. 352
Chininchlorhydrat und Karbolsäure, Wirkung auf Aspergillus niger. 273
— und Kupfersulfat, Wirkung auf Aspergillus niger. 181. 272
— und Salzsäure, Wirkung auf Aspergillus niger. 177
Chionaspis Evonymi C., Evonymusschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Chlamydothrix ferruginea (Migula) s. Gallionella ferruginea (Ehrenberg).
— ochracea (Migula) s. Leptothrix ochracea (Kützing).
Chloranthie s. auch Blütenvergrünung.
— des Weinstockes, Ursache. 363
Chlorita flavescens, Zuckerrübenschädling. 618
Chlorose des Weinstockes, ätiologische Bedeutung der Wurzelfäule für dieselbe. 790
— —, Symptome. 462
— —, Untersuchungen. 461. 563. 715. 788
— — in Rheinhessen, Untersuchungen. 563. 715
— —, Ursache und Behandlung. 465. 563. 715. 788
Chlorürophilie von Bakterien. 326
Chondrioderma reticulatum, Plasmodienbildung. 346
Chrotogonus hemipterus Schaum, Gurkenschädling in Ostusambara. 356
Chrysanthemen, durch Phytoecia pustulata Schrk. geschädigt. 622
Chydorus sphaericus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderhold, Entwickelung und Parasitismus. 606
Cleonus punctiventris Germ., Zuckerrübenschädling. 289
Clepsine sexoculata, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Clinodiplosis acinorum n. sp. Rübs, in faulen Weinbeeren. 364
— vitis Lüstner, Vorkommen auf dem Weinstocke. 364
Cocciden, Schädlichkeit. 365
Cochylis s. a. Conchylis.
Codonella lacustris, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Coelopus tenuior, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Coleophora laricella, Lärchenschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 325
Colletotrichum brachytrichum, Kakaobaumschädling. 613
— paucipilum n. sp. Delacroix auf Landolphia Klainii. 613
— Trifolii n. sp. Bain, Schädling von Trifolium und Medicago. 354
Comatricha obtusata, Sporenkeimung. 345
Compositen, Wirte von Puccinien. 543
Conchilus unicornis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598. 599
Conchylis ambiguella Hbn., Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Conidia picea auf Billartia officinalis, Diagnose. 622
Conidiella Taxus auf Taxusblättern, Diagnose. 622
Coniothecium Betulae n. sp. Laubert, Beziehung zur Einschnürungskrankheit der Birke. 619
Contarinia torquens n. sp. Meijere, Gallenbildung an Kohlpflanzen. 622
— viticola, Vorkommen in den Blüten des Weinstockes. 364
Corticium vagum B. et C. var. Solani Burt., Ursache des Kartoffelgrindes. 305
Cortinarius armillatus, Mykorrhizabildung an Tsuga canadensis. 614
— bolaris, Mykorrhizabildung an Betula. 614
— caerulescens, Mykorrhizabildung an Betula. 614
— callisteus, Mykorrhizabildung an Betula. 614
— cinnabarinus, Mykorrhizabildung an Quercus. 614
— fulmineus, Mykorrhizabildung an Quercus. 614
— rubipes n. sp., Mykorrhizabildung. 614
— squamulosus, Mykorrhizabildung an Betula. 614
Coryneum Laurocerasi Prill. et Del. s. Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderhold. 606
Corypha australis, durch Pleospora herbarum geschädigt. 346
Cothurnis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Crenothrix polyspora, Nachweis im Trinkwasser. 370
Cricetomys gambianus, Kakaobaumschädling in Togo. 350
Cristatella mucedo, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Cryptosporium minimum n. sp. Laubert auf durch Frost geschädigten Rosen, Morphologie und Biologie. 163
Cuscuta europaea, Parasit der Zuckerrübe und des Hanfes. 357
— —, Schädling der Zuckerrübe. 301
Cyclocypris laevis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Cyclops bicolor Sars., Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— gracilis Lilljeb., Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— leuckartii, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— macrurus Sars., Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— serrulatus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— strenuus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— varicans Sars., Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Cyclops vernalis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Cyphoderia, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Cypria ophthalmica, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Cytologie der Bakterien, Untersuchungen. 193
Dactylopius vitis, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Dacus oleae, Bekämpfung. 579
— olivae, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 606
Daphnia galeata, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— hyalina, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— Kahlbergiensis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Deimatostages contumax s. Sahlbergella singularis Hagl.
Dendrocoelum lacteum, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Denitrifikation im Boden, Temperaturoptimum. 338
Desinfektion von Trinkwasser mit Peroxyden. 184
Diaphanosoma brachyurum, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Diaptomus gracilis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Diaspis pentagona Targ. Tozz., Maulbeerschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 325. 349. 605
Diastasebildung durch Bac. luteus. 739
Dicroneurus s. Porricondyla. 622
Didymium effusum, Plasmodienbildung. 345
— —, Sporenkeimung. 344
Difflugia globosa, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— hydrostatica, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Digestin, Enzympräparat aus Aspergillus Okazakii. 484
Diglena uncinata, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Diloba caerulocephala, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 605
Dinobryon stipitatum, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598
Diplococcus Lebenis, Vorkommen im Yoghurt. 336
— viscosus n. sp. Sato, Einfluß des Nährbodens auf der Schleimbildung. 30
— — — —, Einfluß der Temperatur. 28
— — — —, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 27
— — — —, Schleimhautbildung in Milch. 27
Diplodia Coffeae auf Kaffeebäumen im Kongostaate. 612
— perseana n. sp. Delacroix auf Persea gratissima. 613
Diplokokken, Schleimbildung. 35
Dipteren der Kolonie Erythrea, Verzeichnis. 620
Dorylaimus stagnalis, Vorkommen am Moritzburger Großteiche. 600
Dosenmilch s. Milch, Dosen-.
Dysdercus superstitiosus, Baumwollschädling in Togo. 351
— suturellus, Schädlichkeit. 365
Earias insulana, Baumwollschädling in Togo. 351
Edamerkäse s. Käse, Edamer-.
Efeu s. a. Hedera helix.
— Blattfleckenkrankheit, Ursache. 168
Eiche s. a. Quercus.
—, Mykorrhizabildung durch Cortinarius-Arten. 614
Eichhörnchen s. Sciurus cepapi A. Sm., Sc. palliatus Peters.
Einschnürungskrankheit der Birke, dabei auftretende Pilze. 619
Eisen, Wirkung auf die Oxydation durch Essigbakterien. 586
Eisenbakterien, Untersuchungen. 502
Elektrizität, Wirkung auf den Rübenertrag. 343
Entomologie, angewandte, Nutzen. 619
Entylia sinuata, Biologie. 365
Enzym aus Aspergillus Okazakii, Bereitung. 484
— und Plasma. 328
Enzyme, Beziehung zur Katalyse. 485
—, Rolle bei der Reifung des Edamerkäses. 530
—, Rolle bei der Reifung des Tabaks. 344
—, Wesen. 656. 799
Ephestia figulilella, Vorkommen im Reisfuttermehl. 369
Epistylis rotans Svec., Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599. 600
Erbsen, St. Johanniskrankheit, durch Fusarium verursacht. 607
Erdbeergeruch, durch Pseudomonas fragaroidea erzeugt. 661
Erde, Reisfeld-, der Malabarküste, Gehalt an stickstoffbindenden Bakterien. 87
Eriophyes vitis, Beziehung zu Arthrocnodax vitis Rübs. 364
Essigbakterien s. Bakterien, Essig-.
Essigsäure, Wirkung auf Essigbakterien. 631
—, Wirkung auf Hefe. 630
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 630
—, Wirkung auf Oidium lactis. 631
Euglypha, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Euphorbien, Morphologie der sie bewohnenden Melampsoren. 545
—, Wirte von Melampsoren. 441. 544
Euspongilla lacustris var. ramosa, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599. 600
Exoascus, Vorkommen. 621
Exosporium palmivorum Sacc. auf Phoenix canariensis. 612
Expedition, pflanzenpathologische, nach Kamerun und Togo 1902/05. 350
Fadenbakterien s. Bakterien, Faden-.
Fadenpilze s. Hyphomyceten.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Färbungen, histologische, für mikrophotographische Aufnahmen. 625
Färbung der Nitrifikationsmikroben. 263
— von Pilzen mit Sudan III zur Bestimmung derselben. 625
Färbungen im Ultramikroskop. 626
Fäulnisbakterien s. Bakterien, Fäulnis-
Farben, Spektral-, Wirkung auf die Sporenbildung bei Saccharomyces. 333
Farbfilter für mikrophotographische Aufnahmen. 625
Farbstoff, Bildung durch Bac. flavus. 120
—, Bildung durch Bac. luteus. 739
—, Bildung durch Bac. luteus, Eigenschaften. 746
—, Bildung durch Bakterien. 518
—, Bildung durch Bakterien, mit Beziehung zur Tyrosinase. 587
—, Bildung durch Penicillium-Arten. 767
—, Bildung durch Pseudomonas Trifolii. 152. 159
—, gelbbrauner, durch Micrococcus chromoflavus gebildet. 521
Fasern, Spinn-, im Ultramikroskop. 626
Feigenbaum, durch Bacterium Fici geschädigt. 355
Fermentation des Tabaks, Wesen. 344
Fett, Vorkommen in Bac. esterificans. 66
Flaschenbier s. Bier, Flaschen-
Fleischbrühe, Verunreinigung durch Hyphomyceten. 327
Flora italica cryptogama. 610
Flüsse, Bedeutung des Lichtes für deren Selbstreinigung. 636
—, Selbstreinigung, Bedeutung der Ammoniakverdunstung für dieselbe. 339
Flüssigkeiten, Sterilisieren. 587
Fluornatrium, Wirkung auf Asperg. niger. 284
—, Wirkung auf den Rübenertrag. 343
Flußsäure, Wirkung auf Essigbakterien. 628
—, Wirkung auf Hefe. 628
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 628
—, Wirkung auf Oidium lactis. 628
Formaldehyd zur Getreidebrandbekämpfung. 373
—, Wirkung auf Essigbakterien. 634
—, Wirkung auf Hefe. 634
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 634
—, Wirkung auf Oidium lactis. 634
Formiate, Wirkung auf Pflanzen. 372
Fragilaria crotonensis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598
Fredericella sultana, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Frost, plasmolytische Wirkungen. 353
—, Wirkung auf den Weinstock. 614
Frostbeschädigung und Pilzbefall, Zusammenhang. 167
Frostspanner s. Cheimatobia brumata.
Fruchtäther, Bildung durch Micrococcus esterificans. 594
Fusarium, Beziehung zur Herz- und Trockenfäule der Zuckerrübe. 617
—, Ursache der Blattrollkrankheit der Kartoffel. 302
Fusarium aquaeductuum, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598
— oxysporum, Kartoffelschädling. 302
— roseum L., Ascusform. 578
— -Krankheiten, Untersuchungen. 606
Fuselöl, Bildung bei der alkoholischen Gärung, Einfluß der N-Quellen. 314
—, Bildungsbedingungen. 591
Fusicoccum Amygdali auf Amygdalus communis. 612
— betulinum n. sp. Laubert, Beziehung zur Einschnürungskrankheit der Birke. 619
Gärtätigkeit der Hefe, Einfluß des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung. 334
— der Milchsäurebakterien, Einfluß des Luftsauerstoffes. 40. 128. 236. 394
Gärung, Hefe-, chemische Vorgänge. 334
— des Lambruscoweines mit Lambruscohefe und Kaliumbisulfitzusatz. 336
—, Milchsäure-, Beziehung zur Wärmebildung in der Milch. 334
— des Natto, Rolle des Bac. Natto. 335
—, Ober-, Hefeauftrieb als wesentliches Charakterisierungsmerkmal. 323
—, Wärmebildung bei derselben. 588
— des Yoghurt, Rolle der Bakterien. 336
Gärwirkung der Hefe, Einfluß der Stickstoffernährung. 312
Galle an Grewia venusta, durch Ustilago Grewiae verursacht, Anatomie. 619
Gallenbildung an Artemisia campestris, durch Rhopalomyia tubifex verursacht. 620
— an Euphorbien, durch Perrisia capsulae verursacht. 620. 621
— an Kochia prostrata. 620
— an Kohlpflanzen, durch Contarinia torquens und Porricondyla argentifera verursacht. 622
— an Papaver, durch Aulax papaveris verursacht. 620
— durch Psylla auf Chlorophora excelsa in Togo. 352
Gallionella ferruginea (Ehrenberg), Eisenablagerung. 507
— — —, Konidienbildung. 506
— — —, Morphologie. 505
— — —, Zellteilung. 506
Gallmücken des Weinstockes 364
Galorrheus pyrogalus Bull., Giftigkeit. 327
— tominosus Schaeff., Giftigkeit. 327
— turpis Weinm., Giftigkeit. 327
Gammarus fluviatilis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Gartenhaarmücke s. Bibio hortulans.
Gase, Sterilisierung. 587
Gelatinenährboden, Herstellung. 370
Getreide, Aufbewahrung. 589
—, Auswintern, Untersuchung der Frostwirkung. 353
Getreidebrandbekämpfung durch Formaldehyd. 373
Getreidegift, Wirkung auf Hefe und andere Mikroorganismen. 585

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Getreidemotte, französische s. Sitotroga cerealella.
Gift, Getreide-, Wirkung auf Hefe und andere Mikroorganismen. 585
Gifte, Wirkung auf Asperg. niger. 176. 272
Giftigkeit von Pilzen. 327
Giftreizker s. Galorrheus tominosus Schaeff.
Gleotila ferruginea s. Gallionella ferruginea (Ehrenberg).
Gloeosphaera ferruginea s. Gallionella ferruginea (Ehrenberg).
Gloeosporium Kicksiae n. sp. Delacroix auf Kicksia africana.
— Mangiferae P. Henn., Vorkommen auf den Antillen. 613
— rhodospermum n. sp. Delacroix auf Sterculia acuminata. 613
Glomerella Artocarpi n. sp. Delacroix auf Artocarpus incisa. 613
Glycyphagus spinipes, Ursache der Korksucht der Weinbeeren. 364
Glykogen, Vorkommen in Bac. esterificans. 66
Glyphodes ocellata, Schädling der Kixia. 351
Goldafter s. Porthesia chrysorrhoea.
Granulobacter-Art, Widerstandsfähigkeit der Kartoffel gegen dieselbe. 306
Grind der Kartoffel, Ursache. 304
Gürtelschorf der Zuckerrübe, Ursache. 615
Gurken, durch Pseudoperonospora Cubensis geschädigt. 356
Gurkenschädlinge in Ostusambara. 356
Gymnosporangium tremelloides, Perennieren der Aecidiumgeneration. 578
Haftfestigkeitsversuche kupferhaltiger Bekämpfungsmittel gegen Peronospora. 373
Hagelbeschädigung des Getreides, Wirkung auf dessen Entwickelung und Ertrag. 604
Hamsterratte, Kakaobaumschädling in Togo. 350
Hanf, Wirt von Cuscuta europaea. 357
Harnsarcina, Infektion von Kühlschiffen. 584
Hartkäse s. Käse, Hart-
Hausschwamm s. a. Merulius lacrimans, Polyporus vaporarius.
—, bautechnische Bemerkungen. 610
—, Untersuchungen. 361
Hedera helix s. a. Efeu.
Hederich-Spritzverfahren, Einfluß der Witterung. 374
Hefe, Bier-, Giftempfindlichkeit. 586
—, —, untergärige, Wirkung des Getreidegiftes. 585
—, Biosfrage. 331
—, Brauerei-, Wirkung von Oxalsäure. 584
—, Brennerei-, Wirkung chemischer Agentien. 626
—, Einfluß der N-Quellen auf die N-Entnahme aus der Lösung. 313
—, Gärtätigkeit, Einfluß des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung. 334
—, Gärwirkung bei verschiedener Stickstoffquelle. 312
—, Lambrusco-, Vergärung des Lambruscoweines mit Kaliumbisulfitzusatz. 336
Hefe, mineralische Ernährung. 331
—, obergärige, Verlust des Auftriebvermögens. 323
—, Preß-, Wirkung chemischer Agentien. 626
—, —, Wirkung von Oxalsäure. 584
—, Stickstoffquellen, zur Ernährung taugliche. 310
—, Vorkommen in Mazun. 70. 83
—, Wirkung von Alkohol. 634
—, Wirkung von Ameisensäure. 630
—, Wirkung von Buttersäure. 631
—, Wirkung von Essigsäure. 630
—, Wirkung von Flußsäure. 628
—, Wirkung von Formaldehyd. 634
—, Wirkuug von Milchsäure. 631
—, Wirkung von Natronlauge. 634
—, Wirkung von Oxalsäure. 633
—, Wirkung von Phosphorsäure. 630
—, Wirkung von Radium. 333
—, Wirkung von Salpetersäure. 628
—, Wirkung von Salzsäure. 628
—, Wirkung von Schwefelsäure. 629
—, Wirkung der Spektralfarben auf die Sporenbildung. 333
—, Wirkung von Weinsäure. 633
—, Wirkung von Zitronensäure. 633
Hefeauftrieb als wesentliches Charakterisierungsmerkmal bei der Obergärung. 323
Hefegärung, chemische Vorgänge. 334
Helminthoparium ubangiense auf Kaffeebäumen im Kongostaate. 612
Helminthosporium Pruni Berk. et Curtis s. Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderhold. 606
Helopeltis antonii, Schädlichkeit. 365
Hemichionaspis Orlandi, Diagnose. 622
Hemilecanium theobromae Newst., Kakaobaumschädling in Togo. 350
Hemileia vastatrix, Kaffeebaumschädling im Kongostaate. 612
Hemipteren, Schädlichkeit. 364
Herzblattkrankheit der Runkelrübe, durch Peronospora Schachtii verursacht. 299
Herzfäule der Zuckerrübe, Ursache. 297. 617
Heterodera, Gurkenschädling in Ostusambara. 356
— radicicola, Verbreitung. 581
— Schachtii, Zuckerrübenschädling. 292. 581. 616. 618
Heu, Selbstentzündung, Ursache. 589
—, Wärmebildung in demselben. 589
Heuschrecken, Wander-, Schädlinge der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Hexenbesen, Bildung durch Botrytis Douglasii an Pseudotsuga Douglasii. 353
—, Vorkommen. 621
Hirsezünsler s. Botys sileacealis.
Hopfen, Konservierung. 589
Humus, Bildung durch Bakterien. 337
Hundsaffen, Schädlinge der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611

Hydra fusca, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— viridis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Hydrodictyon reticulatum, Schädling der Reispflanzen, Bekämpfung. 354
Hyphomyceten, Verunreinigung der Fleischbrühe. 327
Hyponomeuta malinella Zell., Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Ilyocryptus acutifrons Sars., Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Indol, Bildung durch Pseudomonas Trifolii. 156
Inesida leprosa, Schädling der Castilloa elastica. 351
Insekten, schädliche, Bekämpfung. 364
Jodkalium, Wirkung auf den Rübenertrag 343
Jodkalium und Kaliumchlorat, Wirkung auf Aspergillus niger. 281
Iogen, Vorkommen in Bac. esterificans. 66
—, Vorkommen in Pseudomonas Trifolii. 158
Kabliau, Bakterien als Ursache des Rotwerdens desselben nach dem Einsalzen. 326
Käse, Edamer-, Rolle der Bakterien bei der Reifung. 526
—, Hart-, Gelbbraunfärbung durch einen Micrococcus. 518
—, Reifung, Rolle der Kalksalze. 694. 750
—, vegetabilischer, aus der Soyabohne, Herstellung. 601
Käsefehler „kort“, Untersuchungen. 690. 750
Kaffeebaum, Krankheiten im belgischen Kongostaate. 612
Kakaobaum, durch Colletotrichum brachytrichum geschädigt. 613
—, Parasiten und Feinde in Toge. 350
Kaliumbisulfit, Wirkung auf die Lambruscoweingärung. 336
Kaliumchlorat und Jodkalium, Wirkung auf Aspergillus niger. 281
Kalk, Einfluß auf die Vegetation des Weinstockes. 725. 788
—, kohlensaurer, Wirkung auf Buchweizen. 341
— —, Wirkung auf die Wurzelknöllchen der Lupine. 603
Kalksalze, Rolle bei der Käsereifung. 694. 750
Kalkstickstoff, Umwandlung im Boden. 337
Karbolineumversuche im Jahre 1906. 375
Karbolsäure und Chininchlorhydrat, Wirkung auf Aspergillus niger. 273
— und Kupfersulfat, Wirkung auf Aspergillus niger. 274
— und Salicylsäure, Wirkung auf Aspergillus niger. 274
Karbonate, Alkali-, biologische Bestimmung im Boden. 735
Kartoffel, durch Bacillus phytophthorus geschädigt. 613
Kartoffel, Blattrollkrankheit, Ursache. 302
—, Grind, Ursache. 304
—, Kräuselkrankheit, durch Macrosporium solani verursacht. 302
—, durch Phellomyces sclerotiophorus geschädigt. 306
—, durch Phytophthora infestans geschädigt. 303
—, Ringkrankheit, Ursache und Bekämpfung. 303
—, Schwarzbeinigkeit, Ursache und Bekämpfung. 302
—, durch Stysanus Stemonites geschädigt. 305
—, Widerstandsfähigkeit gegen Fäulnisbakterien. 306
—, Widerstandsfähigkeit gegen Phytophthora infestans. 307
Kartoffelbovist s. Scleroderma vulgare Fr.
Kartoffelkrankheiten im Jahre 1906. 289 302
Kasein, Einfluß von Laktose und Milchsäure auf dessen Zersetzung. 593
Kastanie, Eß-, durch Rhacodium cellare geschädigt. 356
Katalyse, physiologische, Bemerkungen. 485
—, Wirkung. 328
Keimfähigkeit frisch geernteter Samen. 603
Keimungsverhältnisse frisch geernteter Samen. 603
Kelep (Baumwollkäfer-Ameise), Feind des Anthonomus grandis. 623
Kern bei Bacterium binucleatum, Untersuchung. 193
—, Zell-, Veränderung durch kalkfällende Mittel. 372
Kicksia s. a. Kixia.
Kirschbaum, Bakterienbrand, durch Bac. spongiosus n. sp. verursacht. 355
Kixia s. a. Kicksia.
—, durch Glyphodes ocellata geschädigt. 351
—, durch Psylla geschädigt. 351
Klee, Phosphorsäurebedarf. 343
Kleemüdigkeit des Bodens, Ursache. 343
Kleeseide s. Cuscuta europaea.
Knöllchen, Wurzel-, der Lupine, Wirkung des kohlensauren Kalkes. 603
Knöllchenbakterien s. Bakterien, Knöllchen-.
Knöllchenbildung bei Soyabohnen, Wirkung von japanischer Erde. 341
Knöllchenmikroorganismus der Leguminosen, Isolierung, Kultur etc. 264. 426
Kokospalme, Schädlinge in Deutsch-Ostafrika. 611
—, Wirt von Aspidiotus destructor Sign. 352
Kongreß, VIII. internationaler wirtschaftlicher in Wien. 577
Konservierung des Hopfens. 589
Kontaktwirkungen in der biologischen Chemie. 328
Korksucht der Weinbeeren, durch Glycyphagus spinipes verursacht. 364
Kornmotte s. Tinea granella.
Kornwurm, indischer s. Calandra oryzae L.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kornwurm, schwarzer s. Calandra granaria L.
„kort“, Käsefehler, Untersuchungen. 690. 750
Kräuselkrankheit der Baumwolle, Ursache. 622
— der Kartoffel, durch Macrosporium solani verursacht. 302
— der Runkelrübe, durch Peronospora Schachtii verursacht. 299
— der Zuckerrübe, durch Peronospora Schachtii verursacht. 616
Krankheiten, Empfänglichkeit der Kulturpflanzen für dieselben. 604
— des Kaffeebaumes im Kongostaate. 612
—, Pflanzen-, in Frankreich. 612
—, —, in der Versuchsanstalt zu Spalato im Jahre 1906 beobachtet. 605
— der Zuckerrübe in Posen und Westpreußen im Jahre 1906. 617
Krebs, Rosen-, Untersuchungen. 618
Kühlschiffe, Infektion durch nahe Pferdestallungen mit Harnsarcina. 584
Kulturpflanzen s. Pflanzen, Kultur-.
Kupferlösungen, Haftfestigkeitsversuche. 373
Kupfersulfat und Chininchlorhydrat, Wirkung auf Aspergillus niger. 181. 272
— und Karbolsäure, Wirkung auf Aspergillus niger. 274
Lab, Bereitung. 592
—, Wirkung. 592
Lacrymaria vermicularis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Lärchenminiermotte s. Coleophora laricella. 325
Läuse, Blatt-, Zuckerrübenschädlinge. 291
Laktose, Einfluß auf die Zersetzung von Kasein durch Mikroorganismen. 593
Lambruscohefe s. Hefe, Lambrusco-.
Lambruscowein s. Wein, Lambrusco-.
Langwerden des Weißbieres, Ursache. 322
Lappenrüßler s. Otiorhynchus ligustici.
Lathonura rectirostris, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Leguminosen, Knöllchen, Vorkommen. 265
—, Knöllchenmikroorganismus, Isolierung, Kultur etc. 264. 426
Leocarpus vernicosus, Plasmodienbildung. 346
— —, Sporenkeimung. 344
Leptodora kindtii, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Leptothrix ochracea (Kützing), Eisenablagerung. 505
— — —, Konidienbildung. 504
— — —, Morphologie. 503
— —, Zellteilung. 504
Lequereusia, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Lestodiplosis parricida n. sp. Rübs., Parasit der Larven von Clinodiplosis-Arten. 364
Leuchtbakterien s. Bakterien, Leucht-.
Leuchten der Bakterien, Theorie. 590
Leucin, Einfluß auf die Gärwirkung der Hefe. 312
Licht, Abtötung der Bakterien. 635
—, Bakterien-, Erforschung. 116
—, Bedeutung für die Selbstreinigung der Flüsse. 636
—, Bildung durch Bakterien. 590
Linotus anser, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Lita ocellata Boyd, Zuckerrübenschädling. 291
— ocellatella, Ursache des Rübenschorfes. 361
Loxophyllum fasciola, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Loxostege sticticalis s. Lita ocellatella. 361
Luftsauerstoff, s. Sauerstoff, Luft-.
Lumbriculus variegatus, Vorkommen am Moritzburger Großteiche. 600
Lupine, Wirkung des kohlensauren Kalkes auf deren Wurzelknöllchen. 603
Lynceus affinis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— costatus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— rostratus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Macrosporium solani, Ursache der Kräuselkrankheit der Kartoffel. 302
Maikäfer, Verwertung. 636
Mangan, Wirkung auf die Oxydation durch Essigbakterien. 586
Mastigocerca capucina, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— cornuta, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Maulbeerbaumschildlaus s. Diaspis pentagona.
Mazun, armenisches, bakteriologische Untersuchung. 70
—, Säuerungsversuche. 84
Medicago sativa, durch Colletotrichum Trifolii geschädigt. 354
Meerwasser, Bakteriengehalt. 326
Mehlmilbe s. Tyroglyphus farinae.
Melampsora Euphorbiae Amygdaloides, Morphologie. 559
— — Cyparissiae, Morphologie. 553
— — dulcis Otth, Biologie, Infektionsversuche. 456
— — — —, Morphologie. 557
— — Gerardianae, Morphologie. 548
— — Pepli, Morphologie. 554
— — strictae, Morphologie. 558
— Helioscopiae (Pers.) Winter, Biologie, Infektionsversuche. 444
— —, Morphologie. 552
Melampsoren, Euphorbien bewohnende, Biologie, Infektionsversuche. 441. 544
— — — Morphologie. 545
Melampsoridium betulinum s. Peridermium Laricis. 348
Melonen, durch Pseudoperonospora Cubensis geschädigt. 356
Melone, durch Septoria Cucurbitacearum geschädigt. 612

Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Meltau, Stachelbeer- s. Sphaerotheca mors uvae. 325
Merulius domesticus, Biologie. 361
— lacrimans Schum., Auflösung in 2 Arten, M. domesticus und M. silvester. 361
— —, parasitäres Auftreten, Infektionsversuche. 609
— silvester, Biologie. 361
Mesostoma Ehrenbergi, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Metallsalze, Einfluß der Witterung auf deren Wirkung. 374
Metopidia cornuta (Schmarda), Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Micrococcus chromoflavus n. sp. Huss, Farbstoffbildung. 521
— — — —, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 521
— — — —, Ursache der Gelbbraunfärbung des Käses. 518
— esterificans, Fruchtätherbildung. 594
— gelatinosus, Schleimbildung. 37
— gummosus, Schleimbildung. 37
— lacticus, Verhalten in einer Milchkultur zusammen mit Bac. esterificans. 62
— melitensis, Farbstoffbildung. 587
— sulfureus, Stickstoffbindung. 94
— — var. tardigradus aus indischer Reisfelderde, Morphologie und Biologie. 92
Microthyrium Laurentiorum auf Kaffeebäumen im Kongostaate. 612
— Leopoldvilleanum auf Kaffeebäumen im Kongostaate. 612
Mikroorganismen, aërobe, Einfluß auf Milchsäurebakterien. 254. 394
— —, Züchtungsverfahren. 587
—, anërobe, Züchtungsverfahren. 587
—, Einfluß von Laktose und Milchsäure auf die Zersetzung von Kasein durch dieselben. 593
—, thermophile, des Trinkwassers. 328
—, Wasserstoffbindung, anaërobe. 495
—, Wirkung des Getreidegiftes. 585
Mikrophotographie, Farbfilter und Färbungen für dieselbe. 625
Milch, Dosen-, sterilisierte, Vorkommen von Plectridium novum. 256. 420
—, Reduktase, Untersuchung. 334
—, Säuerungsversuche mit Mazun. 84
—, Schleimbildung durch Diplococcus viscosus. 27
—, Umwandlung in Yoghurt. 336
—, Wärmebildung. 334
Milchsäure, Einfluß auf die Zersetzung von Kasein durch Mikroorganismen. 593
—, Wirkung auf Essigbakterien. 631
—, Wirkung auf Hefe. 631
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 631
—, Wirkung auf Oidium lactis. 631
Milchsäurebakterien s. Bakterien, Milchsäure-.
Milchsäuregärung, Beziehung zur Wärmebildung in der Milch. 334
—, Einfluß von aëroben Mikroorganismen. 254. 394
Milchsäuregärung, Einfluß des Luftsauerstoffes. 40. 128. 236. 394
Mistel s. Viscum album.
Mittelmeersalz, Vorkommen eines Bacillus. 327
Monilia, Vorkommen in Oesterreich im Jahre 1906. 324
Mordschwamm s. Galorrheus turpis Weinm.
Mycoderma Lebenis, Vorkommen im Yoghurt. 336
— Rütti, Einfluß auf Bacillus casei ε. 254
Mycodiplosis plasmoparae n. sp. Rübs., Feind der Plasmopara viticola. 364
Mykocecidie s. Cecidie, Myko-.
Mykologie, technische, Handbuch. 587
Mykorrhiza, Bildung durch Cortinarius-Arten. 614
Mylabris bihumerosa Mars., Gurkenschädling in Ostusambara. 357
Myxomonas betae, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 294
Myxomyceten, Plasmodienbildung. 345
—, Sporenkeimung. 344
Nährböden, Herstellung. 370
— für Penicillien, Bereitung. 678
Nais elinguis, Vorkommen am Moritzburger Großteiche. 600
Narkose der Pflanzen, Untersuchungen. 574
Nashornkäfer s. Oryctes.
Natriumperoxyd zur Trinkwasserdesinfektion. 188
Natronlauge, Wirkung auf Essigbakterien. 635
—, Wirkung auf Hefe. 634
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 635
—, Wirkung auf Oidium lactis. 635
Natto = vegetabilischer Käse.
—, Rolle des Bac. Natto bei der Gärung desselben. 335
Nebela, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Nematodenfrage, internationale Bedeutung. 581
Nephelis vulgaris, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Nitrate, Menge in Tschernosemböden zu verschiedenen Jahreszeiten. 601
Nitrifikation im Boden, Temperaturoptimum. 338
— in Tschernosemböden. 601
Nitrifikationsmikroben, Färbung. 263
Nitrit, Wirkung auf Sojabohnen. 341
Nitrokulturen von Pseudomonas radicicola, Herstellung. 436
Nitrosomonas europaea var. italica (Perotti), Vorkommen im Boden Roms, Morphologie. 337
Nonne s. Psilura monacha.
Notholca longispina, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598. 599
Obergärung s. Gärung, Ober-.
Objekttisch, beweglicher, Modell. 625
Odumbaum s. Chlorophora excelsa.
Oelbaum s. a. Olive.
Oelfliege s. Dacus oleae und D. olivae.
Oidium, Wirkung von Weizengift. 586

Oidium humuli, Hopfenschädling. 589
— lactis, Hopfenschädling. 589
— —, Milchsäuerungsversuche. 84
— —, Vorkommen in Mazun. 71
— —, Wirkung von Alkohol. 634
— —, Wirkung von Ameisensäure. 630
— —, Wirkung von Buttersäure. 631
— —, Wirkung von Essigsäure. 631
— —, Wirkung von Flußsäure. 628
— —, Wirkung von Formaldehyd. 634
— —, Wirkung von Milchsäure. 631
— —, Wirkung von Natronlauge. 635
— —, Wirkung von Oxalsäure. 633
— —, Wirkung von Phosphorsäure. 630
— —, Wirkung von Salpetersäure. 629
— —, Wirkung von Salzsäure. 628
— —, Wirkung von Schwefelsäure. 629
— —, Wirkung von Weinsäure. 633
— lactis, Wirkung von Zitronensäure. 633
— —, Zersetzung des Kaseins. 593
— Tuckeri, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 605
Olive, Brusca, durch Stictis Panizzei verursacht. 356
—, Tuberkelkrankheit, Identität der Erreger. 531
Orobranche hederae Duby, Parasit auf Aralia Sieboldi. 357
Oryctes boa F., Schädling der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
— monoceros Ol., Schädling der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Otiorhynchus ligustici, Zuckerrübenschädling. 616
Oxalsäure, Wirkung auf Brauerei- und Preßhefe. 584
—, Wirkung auf Essigbakterien. 633
—, Wirkung auf Hefe. 633
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 633
—, Wirkung auf Oidium lactis. 633
Oxycarenus hyalinipennis, Baumwollparasit in Togo. 351
Oxydationswirkung der Essigbakterien, Erhöhung durch Eisen- und Manganzusatz. 586
Pachyrhina histrio, Zuckerrübenschädling. 291
— maculata, Zuckerrübenschädling. 291
— pratensis, Zuckerrübenschädling. 291
Palmbohrer s. Rhynchophorus phoenicis F.
Paludicella articulata, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Pantherpilz s. Amanita pantherina DC.
Papayotin, Wirkung auf Bierhefe. 586
Papulospora sepedonioides, Schädling der Eßkastanie. 356
Paranectria Wildemaniana auf Kaffeebäumen im Kongostaate. 612
Pediococcus viscosus, Ursache der Schleimkrankheit des Weißbieres. 322
Pellicularia koleroga, Kaffeebaumschädling im Kongostaate. 612
Penicillium-Arten, Farbstoffbildung. 767
—, Physiologie. 766
— aromaticum casei I. Ohlsen s. Penicillium roqueforti Thom.
Penicillium camemberti Thom., kulturelle Eigenschaften. 759
— — —, Morphologie. 758
— glaucum, Hopfenschädling. 589
— italicum Wehmer, kulturelle Eigenschaften. 755
— — —, Morphologie. 689
— juglandis n. sp. Weidemann, kulturelle Eigenschaften. 684
—, Morphologie. 684
— kiliense n. sp. Weidemann, kulturelle Eigenschaften. 681
— — — —, Morphologie. 680
— musae n. sp. Weidemann, kulturelle Eigenschaften. 687
— — — —, Morphologie. 687
— olivaceum Wehmer, kulturelle Eigenschaften. 757
— — —, Morphologie. 756
— roqueforti Thom, kulturelle Eigenschaften. 763
— — —, Morphologie. 763
Pepton, Einfluß auf die Gärwirkung der Hefe. 312
—, Wirkung auf Bierhefe. 586
Perichaena depressa, Sporenkeimung. 345
Peridermium-Arten in Nord-Amerika. 347
— abietinum (A. u. S.) in Nord-Amerika. 348
— acicolum Underw. et Earle auf Pinus rigida in Nord-Amerika. 347
— balsameum Peck auf Abies in Nord-Amerika. 348
— boreale n. sp. Arthur u. Kern auf Picea in Nord-Amerika. 348
— carneum (Bosc.) Seym. et Earle auf Pinus in Nord-Amerika. 347
— cerebrum Peck auf Pinus in Nord-Amerika. 348
— coloradense (Diet.) auf Picea in Nord-Amerika. 348
— columnare (A. et Schw.) in Nord-Amerika. 348
— conorum-Piceae auf Picea in Nord-Amerika. 348
— consimile n. sp. Arthur u. Kern auf Picea in Nord-Amerika. 348
— decolorans Peck auf Picea in Nord-Amerika. 348
— delicatulum n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus in Florida. 347
— elatinum (A. et Schw.) auf Abies in Nord-Amerika. 348
— Ephedrae Cke auf Ephedra in Nord-Amerika. 348
— filamentosum Peck auf Pinus ponderosa in Nord-Amerika, 347
— fusiforme n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus in Nord-Amerika. 348
— globosum n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus Strobus in Nord-Amerika. 348
— gracile n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus filifolia in Nord-Amerika. 347
— Harknessii Moore auf Pinus in Nord-Amerika. 348
— Holwayi Syd. auf Abies lasiocarpa in Nord-Amerika. 348

Peridermium intermedium n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus echinata in Nord-Amerika. 347
— Laricis (Kleb.) in Nord-Amerika. 348
— mexicanum n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus in Nord-Amerika. 348
— montanum n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus scopulorum in Montana. 347
— ornamentale Arth. auf Abies lasiocarpa in Nord-Amerika. 348
— Peckii Thuem. auf Tsuga canadensis in Nord-Amerika. 348
— pseudo-balsameum (D. et. H.) auf Abies grandis in Nord-Amerika. 348
— pyriforme Peck auf Pinus in Nord-Amerika. 348
— Rostrupi E. Fisch. auf Pinus rigida in Nord-Amerika. 347
— stalactiforme n. sp. Arthur u. Kern auf Pinus in Nord-Amerika. 348
Perkinsiella saccharicida, Zuckerrohrschädling. 365
Perlschwamm, Giftigkeit. 327
Peronospora cubensis B. u. C., Gurkenschädling in Ostusambara. 357
— Schachtii, Runkelrübenschädling. 299
— —, Ursache der Kräuselkrankheit der Zuckerrübe. 616
— viticola, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349. 605
— —, Bekämpfungsmittel. 373
Peroxyde zur Trinkwasserdesinfektion. 184
Perrisia capsulae Kieff., Gallenbildung an Euphorbien. 620. 621
Pestalozzia Hartigii subsp. Betulae, Beziehung zur Einschnürungskrankheit der Birke. 619
Pflanzen, Kultur-, Empfänglichkeit für Schmarotzerkrankheiten. 604
—, Schädigung durch Spüljauchenberieselung. 624
—, Wirkung von Acetaten und Formiaten. 372
—, Wirkung von Beschädigungen auf Entwickelung und Ertrag. 604
Pflanzenentwickelung, Wirkung der Bodensterilisation. 341
Pflanzenkrankheiten, Einfluß häufigen Regens. 348
— in Frankreich. 612. 621
— in Kamerun und Togo. 350
— in Oesterreich im Jahre 1906. 324. 349
— in der Versuchsanstalt zu Spalato im Jahre 1906 beobachtet. 605
Pflanzennarkose, Untersuchungen. 574
Pflanzenschädlinge in Kamerun und Togo. 350
— in Oesterreich im Jahre 1906. 324
Pflanzenschutz, internationale Bedeutung des Vogelschutzes für denselben. 580
—, Organisation. 577
—, fachwissenschaftliche Kontrolle. 580
Pflanzenschutzstation in Wien, Tätigkeitsbericht für 1906. 324
Pflanzenwelt des Moritzburger Großteiches bei Dresden. 596
Phellomyces sclerotiophorus, Fruktifikation 305
— —, Kartoffelschädling. 306
Phoenix canariensis, durch Exosporium palmivorum Sacc. geschädigt. 612
Phoma betae, Beziehung zur Herz- und Trockenfäule der Zuckerrübe. 297. 617
— —, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 294. 360. 617
— —, Zuckerrübenschädling. 616
— hederacea Arc. s. Phyllosticta hederacea.
— oleandrina, Oleanderschädling. 612
Phosphorsäure, Wirkung auf Essigbakterien. 630
—, Wirkung auf Hefe. 630
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 630
—, Wirkung auf Oidium lactis. 630
Phosphorsäurebedarf des Rotklees. 343
Photobacterium italicum, Versuche mit seinem Lichte. 116
— phosphorescens, Versuche mit seinem Lichte. 116
Phrystola coeca, Schädling der Kixia. 351
Phyllosticta Cinnamomi n. sp. Delacroix auf Cinnamomum zeylanicum. 613
— hederacea (Arc.) Allesch., Saprophyt der Efeublätter. 170. 173
— hedericola Dur. et Mont., Ursache der Blattfleckenkrankheit des Efeus. 170. 172
— Nephelii n. sp. Delacroix auf Nephelium lappaceum und Durio Zibethinus. 613
Phylloxera gallicola, Vorkommen in Oesterreich im Jahre 1906. 325
— vastatrix, Auftreten in Spalato im Jahre 1906. 605
Physarum didermoides, Plasmodienbildung. 345
— —, Sporenkeimung. 345
Phytoecia lineola Fab. s. Phytoecia pustulata Schrk.
— pustulata Schrk., Chrysanthemenschädling. 622
Phytophthora, Kakaobaumschädling in Togo. 350
— infestans, Kartoffelschädling, Bekämpfung. 303
— —, Widerstandsfähigkeit der Kartoffel gegen dieselbe. 307
Phytoptus piri, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 605
Pigment s. Farbstoff.
Pilze, Färbung mit Sudan III zur Bestimmung derselben. 625
—, Giftigkeit. 327
— Italiens, Systematik. 610
—, Morphologie, Physiologie, Pathologie, Klassifikation etc. 344
Piricularia oryzae, Beziehung zum brusone des Reises. 354
Planaria torva, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Plankton des Moritzburger Großteiches bei Dresden. 598
Plasma und Enzym. 328

Plasmolyse beim Getreide infolge des Frostes. 353
Plasmopara Cubensis, Vorkommen in Oesterreich im Jahre 1906. 324
— (Peronospora) viticola als Nahrung der Larven von Mycodiplosis plasmoparae. 364
Plectridium foetidum s. Plectridium novum. 256. 420
— novum n. sp. Huss, Biologie. 259
— — —, chemische Leistungen. 424
— — —, Färbbarkeit. 259
— — —, kulturelle Eigenschaften. 261. 420.
— — —, Morphologie und Entwickelung. 258
— — —, Vorkommen in sterilisierter Dosenmilch. 256. 420
Pleospora herbarum (Pers.) Rabh., Entwickelungskreis. 346
Plumatella fruticosa, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— repens, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Plusia, Zuckerrübenschädling. 290
Podura aquatica, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Polyathra platyptera, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 598. 599
Polyphemus pediculus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Polyporus vaporarius (Pers.), Untersuchungen. 609
Porricondyla argentifera n. sp. Meijere, Gallenbildung an Kohlpflanzen. 622
Porthesia chrysorrhoea, Verbreitung und Bekämpfung. 623
Preßhefe s. Hefe, Preß-.
Pristina longiseta, Vorkommen am Moritzburger Großteiche. 600
Prorodon edentatus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Proteus vulgaris, Wirkung auf das Wärmeleitungsvermögen des Bodens. 500
Pseudomonas campestris, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 360
— fragaroidea n. sp. Huss, chemische Leistungen. 674
— — —, Erdbeergeruchbildung. 661
— — —, Färbbarkeit. 665
— — —, kulturelle Eigenschaften. 666
— — —, Morphologie. 664
— radicicola, Färbereaktionen. 427
— —, isoliert aus den Wurzelknöllchen der Leguminosen. 265
— —, Isolierung. 270
— —, kommerzielle Verwendung. 436
— —, Kultur. 266
— —, Lebensfähigkeit. 428
— —, Morphologie. 426
— —, Wachstum. 271. 426
— Trifolii n. sp. Huss, Aromabildung. 149
— — —, Eigenbewegung. 69
— — —, Färbbarkeit. 70
— — —, Farbstoffbildung. 159
— — —, Fettnachweis. 159
Pseudomonas Trifolii n. sp. Huss, Fundort. 69
— — —, Glykogennachweis. 159
— — —, Indolbildung. 156
— — —, Iogengehalt. 158
— — —, kulturelle Merkmale. 149
— — —, Morphologie. 69
— — —, Säurebildung. 155
— — —, Sauerstoffbedürfnis. 70
— — —, Schwefelwasserstoffbildung. 155
— — —, Volutingehalt. 159
— — —, Wirkung der Temperatur. 149
Pseudoperonospora Cubensis, Melonen- und Gurkenschädling. 356
Pseudotsuga Douglasii Carr., Infektionsversuche mit Botrytis Douglasii. 353
Psilura monacha, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 325
Psylla, Gallenbildung auf Chlorophora excelsa in Togo. 352
—, Schädling der Kixia. 351
Puccinia Asperulae cynanchicae Wurth, Entwickelung. 607
— — odoratae Wurth, Entwickelung. 607
— Carduorum Jacky, Infektionsversuche. 544
— Caricis, Infektionsversuche. 608
— Galii silvatici Otth., Entwickelung. 607
— Hieracii (Schum.) Mart., Spezialisierung. 543
— — Auriculae auf H. Auricula. 543
— — murorum auf H. murorum. 543
— — Pilosellae auf H. Pilosella. 543
— — praealti auf H. praealtum. 543
— Hypochoeridis Oud., Selbständigkeit der Species, Infektionsversuche. 544
— Isiacae (Thum.) Wint., Infektionsversuche. 608
— Leontodontis Jacky, Selbständigkeit der Species, Infektionsversuche. 543
— Lychnidis-Miquelianae n. sp. Diet. auf Lychnis Miqueliana in Japan. 608
— Maydis Bér., Infektionsversuche. 609
— montivaga Bubák n. sp., Selbständigkeit der Species. 544
— Poarum Niels., Infektionsversuche. 608
— purpurea Cooke, Sorghumparasit in Togo. 352
Puccinien, Kompositen bewohnende. 543
Pustelschorf der Rübe, durch Bact. scabiegenum verursacht. 360
Pyrenomyceten Italiens, Systematik. 611
Pythium de Baryanum, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 294. 360
Quecksilberchlorid, Wirkung auf Aspergillus niger. 277
Quercus s. a. Eiche.
Radium, Wirkung auf Saccharomyces. 333
Ranunculaceen, Wirte von Uromyces. 697. 771
Ratten, Schädlinge der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Ravenelia Berk, Monographie. 607
Rebe s. Weinstock.
Reduktase der Milch, Untersuchung. 334

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reduktion der Milch, eine Bakterienwirkung. 335
Regen, Einfluß auf die Neigung zur Erkrankung von Kulturpflanzen. 348
Reifung des Edamerkäses, Rolle der Bakterien. 526
Reinzucht, natürliche, Beiträge. 584
Reis, durch Hydrodictyon reticulatum geschädigt. 354
—, Ursache des „brusone" desselben. 354
Reisfuttermehl, Vorkommen von Ephestia figulilella. 369
Reiskäfer s. Calandra oryzae.
Reiswurm s. Calandra oryzae.
Reticularia Lycoperdon, Sporenkeimung. 345
Rettig, Pilzerkrankung. 614
Rhacodium cellare, Parasit der Eßkastanie. 356
Rhagoletis Cerasi L., Bekämpfung. 580
Rhizoctonia Solani s. Rhizoctonia violacea. 305
— violacea, Beziehung zu Corticium vagum B. et C. var. Solani Burt. 305
— —, Ursache des Kartoffelgrindes. 304
— —, Ursache der Rotfäule der Zuckerrübe. 616. 617
— —, Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 360
Rhizopoden, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Rhopalomyia tubifex, Gallenbildung an Artemisia campestris. 620
Rhynchophorus phoenicis F., Schädling der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Riesenschnellkäfer s. Tetralobus flabellicornis L.
Rindenwanze s. Sahlbergella singularis.
Ringkrankheit der Kartoffel, Ursache und Bekämpfung. 303
Ripistes macrochaeta, Vorkommen am Moritzburger Großteiche. 600
— parasita, Vorkommen am Moritzburger Großteiche. 600
Rosenkrebs, Untersuchungen. 618
Rost der Zuckerrübe, durch Uromyces betae verursacht. 616. 617
Rostpilz, Birnen-, Perennieren des Aecidienmycels. 618
Rotfärbung des Kabliaus nach dem Einsalzen, Ursache. 326
Rotfäule der Zuckerrübe, durch Rhizoctonia violacea verursacht. 616. 617
Rotklee, Phosphorsäurebedarf. 343
Rotzbacillus des Oelbaumes s. Bacillus, Rotz-, d. Oe.
Rotzkrankheit des Oelbaumes s. Tuberkelkrankheit d. Oe.
Rübe s. a. Runkelrübe und Zuckerrübe.
Rübe, Pustelschorf, durch Bact. scabiegenum verursacht. 360
—, Schorf, durch Sita ocellatella verursacht. 361
— durch Sclerotinia Libertiana Fuckel geschädigt. 299. 609
Rübenertrag, Steigerung durch Reizmittel. 343
Rübensamen, Wertbestimmung. 360
Runkelrübe, durch Peronospora Schachtii geschädigt. 299
Russula nigricans Bull., Giftigkeit. 327
Saccharomyces cerevisiae Hansen, Wirkung der Spektralfarben auf die Sporenbildung. 333
— ellipsoideus Hansen, Wirkung der Spektralfarben auf die Sporenbildung. 333
— intermedius Hansen, Wirkung der Spektralfarben auf die Sporenbildung. 333
— Lebenis, Vorkommen im Yoghurt. 336
— Pastorianus, Milchsäuerungsversuche. 84
— —, Vorkommen in Mazun. 83
— turbidans Hansen, Wirkung der Spektralfarben auf die Sporenbildung. 333
Sämereien, Aufbewahrung. 589
Säuerungsversuche mit Mazun. 84
Säurebildung durch Bac. luteus. 738
Sahlbergella singularis Hagl., Kakaobaumschädling in Togo. 350
Salicylsäure und Karbolsäure, Wirkung auf Aspergillus niger. 274
Salpetersäure, Wirkung auf Essigbakterien. 629
—, Wirkung auf Hefe. 628
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 629
—, Wirkung auf Oidium lactis. 629
Salz, Mittelmeer-, Vorkommen eines Bacillus. 327
—, Wirkung auf Bakterien. 326
Salzsäure und Chininchlorhydrat, Wirkung auf Aspergillus niger. 177
—, Wirkung auf Essigbakterien. 628
—, Wirkung auf Hefe. 628
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 628
—, Wirkung auf Oidium lactis. 628
Samen, frisch geerntete, Keimungsverhältnisse. 603
Samenverbreitung, endozoische. 362
Sarcina, Harn-, Infektion von Kühlschiffen. 584
—, Nachweis. 324
—, Wirkung im Biere. 323
Sauerstoff, Bindung durch Bac. mesentericus vulgatus. 206
—, Einfluß auf die Gärtätigkeit der Hefe. 334
—, Giftwirkung auf Bacterium butyricum. 588
—, Giftwirkung auf Bakterien. 588
—, Luft-, Einfluß auf die Gärtätigkeit der Milchsäurebakterien. 40. 128. 236. 394
Sauerwurm s. Conchylis ambiguella Hbn.
Scapholeberis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Schädlinge der Gurken in Ostusambara. 356
—, Pflanzen-, in Kamerun und Togo. 350
—, —, in Oesterreich im Jahre 1906. 324
—, tierische, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schädlinge, tierische, Bekämpfung. 579
—, —, der Zuckerrübe. 616. 617
—, —, der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
—, —, in der Versuchsanstalt zu Spalato im Jahre 1906 beobachtet. 605
Schildläuse, Schädlinge der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Schistocerca peregrina, Bekämpfung. 369
— — in Usambara, Biologie. 366
Schizoneura lanigera Hausm., Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Schleimbildung durch Bakterien. 35
— in der Milch, durch Diplococcus viscosus verursacht. 27
Schleimkrankheit des Berliner Weißbieres, durch Pediococcus viscosus verursacht. 322
Schnecken, Gurkenschädlinge in Ostusambara. 357
Schorf, Pustel-, der Rüben, durch Bact. scabiegenum verursacht. 360
— der Rübe, durch Lita ocellatella verursacht. 361
— der Zuckerrübe, Ursache. 298
Schoßrüben, Untersuchungen. 359
Schwarzbeinigkeit der Kartoffel, Ursache und Behämpfung. 302
Schwefelsäure, Wirkung auf Essigbakterien. 629
—, Wirkung auf Hefe. 629
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 629
—, Wirkung auf Oidium lactis. 629
Schwefelwasserstoff, Bildung durch Bac. esterificans. 59
—, Bildung durch Pseudomonas Trifolii. 155
Sciurus cepapi A. Sm., Schädling der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
— palliatus Peters, Baumwollschädling. 624
Scleroderma vulgare Fr., Giftigkeit. 327
Sclerotinia Libertiana Fuckel, Rübenschädling. 299. 609
Seidenraupenschädlinge, Bekämpfung. 350
Selbstentzündung des Heues, Ursache. 589
Selbstreinigung der Flüsse, Bedeutung der Ammoniakverdunstung. 339
— — —, Bedeutung des Lichtes für dieselbe. 636
Septobasidium coffeicola auf Kaffeebäumen im Kongostaate. 612
Septoria Cucurbitacearum Sacc auf Melonenblättern. 612
— Lycopersici Speg. auf Tomatenblättern. 612
Serum, Agglutinations-, Wirkung auf Leuchtbakterien. 572
Sida cristallina, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Silpha-Arten, Zuckerrübenschädlinge. 616
Simocephalus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Sitotroga cerealella Ol., Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Slivovitz s. Zwetschengeist.
Sorghum, Wirt von Aphis sorghella Schout. 352
Soyabohne, Bereitung von Käse aus derselben. 601
—, Wirkung von japanischer Erde auf die Knöllchenbildung. 341
—, Wirkung von Nitrit. 341
Spegazzinia Coffeae auf Kaffeebäumen im Kongostaate. 612
Spektralfarben, Wirkung auf die Sporenbildung von Saccharomyces. 333
Sphaerotheca mors uvae, Auftreten in England. 614
— — —, Vorkommen in Oesterreich im Jahre 1906. 325
Spinnfasern im Ultramikroskop. 626
Spirillum ferrugineum s. Gallionella ferruginea (Ehrenberg).
Spirogyra nitida, Wirkung kalkfällender Mittel auf deren Kerne. 372
Spirophyllum ferrugineum (Ellis), Eisenablagerung. 511
— — —, Konidienbildung. 509
— — —, Kultur. 511
— — —, Morphologie. 507
— — —, spiralige Windung. 508
— — —, Teilung. 509
Spirulina ferruginea s. Gallionella ferruginea (Ehrenberg).
Spondylocladium atrovirens s. Phellomyces sclerotiophorus. 306
Sporenbildung bei Bac. luteus. 739
— von Saccharomyces, Wirkung von Radium. 333
— — —, Wirkung der Spektralfarben. 333
Sporenkeimung bei Myxomyceten. 344
Sporidesmium putrefaciens Fukl., Ursache des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. 295
Sporodesmium cavernarum n. sp. Laubert. Beziehung zur Einschnürungskrankheit der Birke. 619
Spüljauchenberieselung, Schädigung der Pflanzen. 624
Stachelbeermeltau s. Sphaerotheca mors uvae.
Stallungen, Pferde-, Infektionsgefahr für nahe Kühlschiffe. 584
Staphylococcus pyogenes aureus, Farbstoffbildung. 587
Steinbrandkrankheit, Empfänglichkeit verschiedener Weizensorten für dieselbe. 354
Stemonitis fusca, Sporenkeimung. 345
— splendens var. flaccida, Sporenkeimung. 344
Stentor polymorphus, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Sterilisation, Boden-, Wirkung auf die Pflanzenentwickelung. 341
— von Gasen und Flüssigkeiten. 587
— von Trinkwasser im Felde. 594
—, Veränderung leichten Sandbodens durch dieselbe. 342
Stickstoff, Ammoniak-, Bewegung in der Natur. 338
—, Bindung im Ackerboden. 602

Stickstoff, Bindung durch Azotobacter-Arten. 318
—, Bindung durch Bakterien. 87. 94
—, Bindung in Streu. 340
Stickstoffernährung, Einfluß auf die Gärwirkung der Hefe. 312
Stickstoffquellen, Einfluß auf die Fuselölbildung bei der alkoholischen Gärung. 314
—, Einfluß auf die N-Entnahme aus der Lösung durch die Hefe. 313
—, Tauglichkeit für die Ernährung der Hefe. 310
Stictis Panizzei, Ursache der Brusca der Olive. 356
Stigmina Briosiana Farn. s. Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderhold. 606
Streptobacillus Lebenis, Vorkommen im Yoghurt. 336
Streptococcus hollandicus, Schleimbildung. 38
— hornensis, Schleimbildung. 37
— lacticus Kruse s. Bacterium Güntheri L. u. N.
Streptokokken, Schleimbildung. 36
Streu, Stickstoffbindung. 340
Stysanus Stemonites, Kartoffelschädling. 305
Suberose s. Korksucht.
Substanz, lebende, Unterschied gegen leblose. 656
Sudan III, Färbung von Pilzen zur Bestimmung derselben. 625
Synchaeta oblonga, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
— pectinata, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Synchytrium, Wirkung auf die Wirtszelle. 539
—, Cytologie. 538
Synedra delicatissima, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 599
Tabak, Fermentation. 344. 589
Täubling, schwarzer s. Russula nigricans Bull.
Taphrina, Vorkommen. 621
Teich, Groß-, Moritzburger, Pflanzen- und Tierwelt. 596
Temperatur, Einfluß auf den Diplococcus viscosus. 28
—, Wirkung auf Pseudomonas Trifolii. 149
Temperaturoptimum für Nitrifikation und Denitrifikation im Boden. 338
Tenebroides mauritanicus L., Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Termiten, Schädlinge der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Tetralobus flabellicornis L., Schädling der Kokospalme in Deutsch-Ostafrika. 611
Thermophilie von Bakterien. 328
Tierwelt des Moritzburger Großteiches bei Dresden. 596
Tinea granella L., Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Tipula oleratia, Zuckerrübenschädling. 291. 617
— suspecta, Beziehung zu Agromyza carbonaria. 370
Tod der Zelle durch Fixierungsmittel, Untersuchungen. 659
Tokophrya cyclopum, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Tomate, durch Septoria Lycopersici geschädigt. 612
Torfextraktnährböden zur bakteriologischen Bodenuntersuchung. 371
Torula, Wirkung von Weizengift. 586
Toxoptera theobromae Schout., Kakaobaumparasit in Togo. 350
Tribolium confusum Duval, Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
— ferrugineum Fabr., Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Triebkrankheit der Pseudotsuga Douglasii Carr., Folgen. 352
Trifolium pratense, durch Colletotrichum Trifolii n. sp. geschädigt. 354
Trinkwasser s. Wasser, Trink-.
Trockenfäule der Zuckerrübe, Ursache. 297. 617
Tschernosemböden, Nitrifikation in denselben. 601
Tuberkelkrankheit des Oelbaumes, Identität der Erreger. 531
Tylenchus devastatrix, Verbreitung. 582
— Hordei, Verbreitung. 581
— scandens, Verbreitung. 582
— — Schneid., Weizenschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Tyroglyphus farinae C. L. Koch, Maisschädling, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1906. 349
Tyrosinase, Beziehung zur Farbstoffbildung bei Bakterien. 587
Ultramikroskop, Untersuchung von Spinnfasern und Färbungen. 626
Unkräuter, Verbreitung durch Tiere auf dem Wege des Darmkanals. 362
Uredineen, Einfluß des alpinen Standortes auf deren Entwickelungsgang. 347
—, Kulturversuche im Jahre 1906. 608
—, Ranunculaceen bewohnende, Formenkreis. 697. 771
—, Vorkommen in Japan. 608
Uredo gossypii, Baumwollschädling in Togo. 351
Uromyces, Ranunculaceen bewohnende, Formenkreis. 697. 771
— — —, Spezialisation. 773
— — —, Untersuchungen. 697. 771
— betae Tul., Ursache des Zuckerrübenrostes. 616. 617
— coronatus Yosh. auf Zizania aquatica Z in Japan. 608
— Dactylidis Otth, Formenkreis. 711. 712
— — —, Infektionsversuche, Formenkreis. 712
— durus n. sp. Diet. auf Allium nipponicum in Japan. 608

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uromyces Galii n. sp. Diet. auf Galium Aparine in Japan. 608
— ovalis Diet. s. Uromyces coronatus Yosh. 608
— Platanifolii-Dactylidis, Untersuchungen, Formenkreis. 711
— Poae Rabh., Beziehung zu Aecidium Ficariae. 703. 704
— — —, Infektionsversuche, Formenkreis. 712
— Silvatici-Dactylidis, Untersuchungen, Formenkreis. 712
Ustilago Grewiae (Pass.) Ham., Gallenbildung an Grewia venusta. 619
Variabilität bei Bac. luteus und Bac. tumescens. 641. 737
Vermicularia trichella Fr., Ursache der Blattfleckenkrankheit des Efeus. 171. 173
Vibrio cholerae asiaticae, Farbstoffbildung. 587
Viscum album, Kulturversuche. 609
Vitis vinifera s. a. Weinstock.
Vogelschutz, Bedeutung für den Pflanzenschutz. 580
Volutin, Vorkommen in Bac. esterificans. 67
—, Vorkommen in Pseudomonas Trifolii. 159
Vorticella campanula, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
— nebularis, Vorkommen im Moritzburger Großteiche. 600
Wärme, Bildung durch Bakterien. 588
—, Bildung im Heu durch Gärungsorganismen. 589
—, Bildung in der Milch, Ursache. 334
Wärmeleitungsvermögen des Bodens, Wirkung der Bakterien. 499
Wanderheuschrecke s. Schistocerca peregrina.
Wasser, Einfluß auf die Vegetation des Weinstockes. 725. 788
—, Meer-, Bakteriengehalt. 326
—, Trink-, bakteriologische Untersuchung. 595
—, —, Desinfektion mit Peroxyden. 184
—, —, Nachweis von Crenothrix polyspora. 370
—, —, in Saïgon, Vorkommen des Bac. violarius acetonicus. 333
—, —, Versorgung im Felde, Sterilisierung. 594
—, —, Vorkommen thermophiler Bakterien. 328
—, Untersuchung, Bac. coli als Indikator für Fäkalverunreinigung. 596
—, Untersuchung, Bac. prodigiosus als Indikator. 625
Wasserstoffbindung, anaërobe, durch Mikroorganismen. 495
Wasserstoffsuperoxyd zur Trinkwasserdesinfektion. 184
Wein, Lambrusco-, Gärungsversuche mit Lambruscohefe und Kaliumbisulfitzusatz. 336
Weinsäure, Wirkung auf Essigbakterien. 633
Weinsäure, Wirkung auf Hefe. 633
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 633
—, Wirkung auf Oidium lactis. 633
Weinstock, ätiologische Bedeutung der Wurzelfäule für die Chlorose. 790
—, Bildungsabweichungen der Blätter. 363
—, Blütenvergrünung, Ursache. 363
—, Chlorose, Untersuchungen. 461. 563. 715. 788
—, Chlorose desselben in Rheinhessen, Untersuchungen. 563. 715
—, Chlorose, Symptome derselben. 462
—, Chlorose, Ursache und Bekämpfung derselben. 465. 563. 715. 788
—, Einfluß von Kalk und Wasser auf seine Vegetation. 725. 788
—, Korksucht der Beeren durch Glycyphagus spinipes verursacht. 364
—, Vorkommen von Cecidomyiden. 363
—, Wirkung des Frostes. 614
Weißbier s. Bier, Weiß-
Weizen, Empfänglichkeit für die Steinbrandkrankheit. 354
Weizenälchen s. Tylenchus scadens.
Weizengift, Wirkung auf Hefen. 586
Weizenmehl, Wirkung auf Acetondauerhefe. 586
Witterung, Einfluß auf die Wirkung der Metallsalze. 374
Wurzelbrand der Zuckerrübe, Auftreten, Ursache und Bekämpfung. 293. 360. 615. 617
— —, durch Phoma betae verursacht. 617
Wurzelfäule des Weinstockes, ätiologische Bedeutung für die Chlorose. 790
Wurzelknöllchen der Lupine, Wirkung des kohlensauren Kalkes. 608
Yoghurt, Gärung, Rolle der Bakterien. 336
Zelle, Vergiftung durch Fixierungsmittel, Untersuchungen. 659
Zellkern, Veränderung durch kalkfällende Mittel. 372
Zellstudien bei Bakterien. 193
Zelus peregrinus, Schädlichkeit. 365
Zersetzungsfähigkeit, Prüfung gereinigter Abwässer auf dieselbe. 596
Zitronensäure, Wirkung auf Essigbakterien. 633
—, Wirkung auf Hefe. 633
—, Wirkung auf Milchsäurebakterien. 633
—, Wirkung auf Oidium lactis. 633
Zoocecidien s. Cecidien, Zoo-.
Zoologie, Grundriß für Forstleute. 363
Zuckerrübe, Blattfleckenkrankheit, durch Cercospora beticola verursacht. 298. 617
—, durch Cuscuta europaea geschädigt. 301
—, Gürtelschorf, Ursache. 615
—, Herz- und Trockenfäule, Ursache. 297. 617
—, Kräuselkrankheit durch Peronospora Schachtii verursacht. 616
—, Krankheiten im Jahre 1906. 289
—, Krankheiten in Deutschland im Jahre 1906. 615
—, Krankheiten und Schädlinge in Posen und Westpreußen im Jahre 1906. 617

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zuckerrübe, Rost durch Uromyces betae verursacht. 616. 617
—, Rotfäule durch Rhizoctonia violacea verursacht. 616. 617
—, Schädlinge, tierische. 289. 616. 617
—, Schorferkrankungen, Ursache. 298
—, Untersuchungen über Schoßrüben. 359
Zuckerrüben, Wesen der „Beet Blight“ oder der „kalifornischen Rübenkrankheit“. 358
Zuckerrüben, Wirkung chemischer Einflüsse. 615
—, Wirkung physikalischer Einflüsse. 615
—, Wirt von Cuscuta europaea. 357
Zuckerrübe, Wurzelbrand, Auftreten, Ursache und Bekämpfung. 293. 360. 615. 617
Züchtungsmethoden für Anaëroben. 2. 97. 202. 385
Zwetschengeist, Bereitung mit Bac. macerans. 161

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Ascobacterium luteum, Kolonie mit und ohne Verunreinigung durch Bac. oleae. 537
— —, Scheidung vom Smithschen Bacillus. 533
Aspergillus Okazakii n. sp., Morphologie (Taf. I u. II). 484
Bacillus cerevisiae, Geißeln (Taf., Fig. 4). 236
— —, Gelatine- und Agarkultur (Taf., Fig. 1—3, 5). 236
— esterificans, Gelatinestichkultur (Taf. V, Fig. 28). 160
— —, Riesenkolonie auf Agar (Taf. IV, Fig. 26—27). 160
— —, Schwärmoidien (Taf. I, Fig. 1—2, 8). 160
— — Sporangien (Taf. I, Fig. 4—5, Taf. III, Fig. 17). 160
— —, Sporen (Taf. I, Fig. 6—7). 160
— —, sporulierende Stäbchen (Taf. I, Fig. 3). 160
— —, Tupfkolonieen auf Agar (Taf. IV, Fig. 24—25). 160
— —, volutinhaltige Zellen (Taf. III, Fig. 15—17). 160
— —, Zellen einer Agarkultur (Taf. II, Fig. 13—14). 160
— —, Zellen einer Gelatinestichkultur (Taf. II, Fig. 9). 160
— —, Zellen einer Kartoffelkultur (Taf. II, Fig. 10—12). 160
— flavus, Geißeln (Taf., Fig. 9). 236
— —, Gelatine- und Agarkultur (Taf., Fig. 6—8). 236
— malabarensis n. sp., Mannitagar- und Fleischgelatinekolonieen (Taf., Fig. 5—10). 96
— — —, Morphologie (Taf., Fig. 1—3). 96
— Mazun, Agarkultur (Taf. I, Fig. 1—3, Taf. III, Fig. 1—2). 86
— —, Gelatinekultur (Taf. I, Fig. 4—6). 86
— —, Individuen aus Agar-, Milch- und Kartoffelkulturen (Taf. II, Fig. 7—10, Taf. III, Fig. 3). 86
— —, Sporangien (Taf. II, Fig. 11). 86
— Oleae, Impfung eines Oelbaumastes. 537
— —, Involutionsformen. 537
Bacillus oxalaticus, Morphologie (Taf., Fig. 4). 96
—, Smithscher, Scheidung von Ascobacterium luteum. 533
Bacterium binucleatum, Kernstudien. 197
— —, cytologische Untersuchungen. 197
Bakterien, anaërobe, Züchtung nach Burrischer Methode. 22
—, —, Züchtung nach Wrightscher Methode. 24
—, —, Züchtungsmethode. 99. 203
Cryptosporium minimum n. sp., Konidienlager und Konidien. 165
— — — auf einem Rosenzweig. 165
Gallionella ferruginea, Morphologie (Taf. I, Fig. 13—20). 518
Käse, mit schnell und langsam milchsäurebildenden Bakterien geimpft. 754
Kernstudien bei Bact. binucleatum. 197
Leptothrix ochracea, Morphologie (Taf. I, Fig. 1—12). 518
Melampsora auf Euphorbia adenochlora, Teleutosporenlager. 556
— — — akenocarpa, Teleutosporenlager. 554
— — — carniolica, Teleutosporenlager. 558
— — — Characias, Teleutosporenlager. 547
— — — dendroides, Teleutosporenlager. 547
— — — Esula, Teleutosporenlager. 555
— — — hebecarpa, Teleutosporenlager. 546
— — — lucida, Teleutosporenlager. 552
— — — macrocarpa, Teleutosporenlager. 549
— — — muricata, Teleutosporenlager. 557
— — — orientalis, Teleutosporenlager. 550
— — — oxyodonta, Teleutosporenlager. 550
— — — palustris, Teleutosporenlager. 555
— — — pekinensis, Teleutosporenlager. 557
— — — peploides, Teleutosporenlager. 551
— — — pterococca, Teleutosporenlager. 551
— — — Schimperiana, Teleutosporenlager. 551
— — — terracina, Teleutosporenlager. 546
— — — verrucosa, Teleutosporenlager. 556

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Melampsora auf Euphorbia virgata, Teleutosporenlager. 557
— Euphorbiae Cyparissiae, Teleutosporenlager. 553
— — dulcis, Teleutosporenlager. 558
— — exiguae, Teleutosporenlager. 553
— — Gerardianae, Teleutosporenlager. 548. 549
— — Pepli, Teleutosporenlager. 554
— — strictae, Teleutosporenlager. 559
— graeca, Teleutosporenlager. 548
— Helioscopiae, Teleutosporenlager. 552
Milch, Plattenkultur. 530
Oelbaumast, mit Bac. Oleae geimpft. 536
Penicillien, Konidieen. 769
Penicillium camemberti, Morphologie. 759
— italicum, Morphologie. 755
— juglandis n. sp., Morphologie. 684
— kiliense n. sp., Morphologie. 681
— musae n. sp., Morphologie. 687
— olivaceum, Morphologie. 757
— roqueforti, Morphologie. 762
Phyllosticta hederacea, Sporen (Taf., Fig. 3). 175
— — auf Efeublatt (Taf., Fig. 1). 175
— —, Sporen (Taf., Fig. 2). 175
Plectridium foetidum s. Plectridium novum.
Plectridium novum n. sp., Gelatine- und Agarkolonieen (Taf.) 425
Pseudomonas radicicola, Kultur (Taf. VIII, Fig. 23). 440
— —, Morphologie (Taf. I—IV). 440
— —, Wirkung auf das Wachstum von Vicia villosa (Taf. V—IX). 440
— Trifolii n. sp., Gelatine- und Agarstich- und -tupfkolonieen (Taf. V, Fig. 29—34). 160
— — —, Schwärmoidien (Taf. III, Fig. 18—23). 160
Spirophyllum ferrugineum, Morphologie (Taf. I, Fig. 21—22, Taf. II, Fig. 23—30). 518
Synchytrium, Beziehung zur Wirtszelle (Taf.). 542
—, Morphologie (Taf.). 542
—, Schwärmsporen (Taf.). 542
Vermicularia trichella auf Efeublatt (Taf., Fig. 4—5). 17[illegible]
— —, Fruchtgehäuse (Taf., Fig. 6). 175
— —, Sporen (Taf., Fig. 7). 17[illegible]
Vicia villosa, Einfluß d. Pseudomonas radicicola auf das Wachstum (Taf. V—IX). 44[illegible]
Weinstock, Wuchstyp eines gesunden und eines chlorotischen Stockes. 46[illegible]

IV. Neue Literatur.

376. 636.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3232

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

41 C
523 +

Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

3 2044 103 032 454

Generated on 2019-09-21 18:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044103032454
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY